



**David Paulo Figueiro Métodos de Fraccionamento de Metais Vestigiais em
Águas e Sedimentos Estuarinos**



David Paulo Fangueiro Métodos de Fraccionamento de Metais Vestigiais em Águas e Sedimentos Estuarinos

dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Armando da Costa Duarte, Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e co-orientação do Doutor Alain Bermond, Professor do "Institut National Agronomique Paris-Grignon", França.

O júri

presidente

Prof. Dra. Celeste de Oliveira Alves Coelho

Professora Catedrática do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Armando da Costa Duarte

Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Dra. Maria Eduarda B. dos Santos

Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Dra. Helena Maria C. S. Carapuça

Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Alain Bermond

Professor Catedrático do « Institut National Agronomique Paris-Grignon », França

Prof. Dr. José António Rodríguez Vázquez

Professor Catedrático do “Departamento de Química Analítica y Alimentaria da Universidad de Vigo”, Espanha

Prof. Dr. Michel Wartell

Professor da « Université des Sciences et Techniques de Lille 1 », França

Agradecimentos

Aos meus supervisores, Professor Doutor Armando da Costa Duarte e Professor Doutor Alain Bermond, por terem proporcionado a realização deste trabalho e por toda a disponibilidade e interesse demonstrado.

À Professora Doutora Helena Maria Correia Seixas Carapuça e à Professora Doutora Maria Eduarda Bastos dos Santos, colaboradoras e supervisoras operacionais de grande parte deste trabalho, pelo constante apoio e disponibilidade. Além disso, tenho que lhes agradecer por me terem transmitido tantos e tantos conhecimentos.

Aos meus colegas de laboratório pela simpatia e amizade ao longo destes quatro anos de trabalho.

À Doutora Teresa Caldeira, pela simpatia com que sempre me ajudou.

À Luísa Pinho, pela paciência, simpatia e ajuda tanto material como mental.

Un grand merci à tous les membres du laboratoire de Chimie Analytique de l'Institut National Agronomique pour m'avoir soutenu et aidé tout au long des quatre années passées ensemble.

A Professora Doutora Maria da Graça Neves, por ter sido quem proporcionou toda esta grande aventura.

Aos meus pais, à minha irmã Ana Luísa e ao Carlos, por toda a confiança e por me terem apoiado nos momentos mais difíceis.

À Clara, por me ter ajudado a não perder de vista as coisas mais importantes da vida.

À Laura, por tudo o que fez e aceitou durante este trabalho.

A todos os que contribuíram directa ou indirectamente para a realização deste trabalho.

Resumo

Os metais vestigiais têm um papel importante em sistemas bifásicos água / sedimento tais como a “Ria de Aveiro”. Por outro lado, alguns destes metais podem ser tóxicos para o homem, sendo, por esse motivo, importante estimar a sua mobilidade no ambiente assim como a sua capacidade de migrar na cadeia alimentar.

O objectivo principal deste trabalho foi desenvolver e otimizar métodos de fraccionamento de metais vestigiais (Cu, Cd e Pb) em águas e sedimentos estuarinos. Adicionalmente, foi também estudado o carácter operacional da fracção de metal lábil determinada nos estudos de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais.

O fraccionamento do cobre, do cádmio e do chumbo em sedimentos foi realizado seguindo a cinética da extracção pelo EDTA destes metais vestigiais. Para tal, foram inicialmente otimizados vários parâmetros experimentais e compararam-se dois protocolos de extracção. As curvas de extracção pelo EDTA em função do tempo, obtidas para os 3 metais estudados, foram depois ajustadas com duas equações cinéticas e dois modelos cinéticos. Provou-se que o modelo de duas reacções de primeira ordem é o mais eficiente para ajustar as curvas de extracção permitindo dividir os metais em três fracções diferentes, a fracção “rapidamente extraível”, a fracção “lentamente extraível” e a fracção “inerte”. Este método de fraccionamento, em conjunto com este modelo, foram finalmente aplicados a vários sedimentos da Ria de Aveiro e mostrou-se que a composição do sedimento tem influência sobre o fraccionamento do cobre e do chumbo pelo EDTA.

O fraccionamento dos metais vestigiais em águas foi realizado com dois métodos diferentes: a voltametria, nomeadamente a voltametria de redissolução anódica (ASV) e a voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva (AdCSV), e a extracção em fase sólida (SPE) com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50. Com ambos os métodos, foram otimizados vários parâmetros experimentais antes da sua aplicação à amostras de águas provenientes da Ria de Aveiro. De modo a comparar a fracção lábil de metal determinada com cada método, as várias técnicas de fraccionamento de metais em águas naturais usadas neste trabalho foram, finalmente, aplicadas a uma mesma amostra. Mostrou-se, assim, que a fracção de metal lábil determinada por AdCSV e por SPE com a Chelex 100 é muito semelhante apesar do tempo de análise em cada técnica ser muito diferente.

No caso da SPE, estudou-se, ainda, o carácter operacional da fracção de metal lábil determinada com esta técnica e mostrou-se que a extensão da dissociação dos complexos metálicos depende da natureza do metal, dos ligandos e da própria resina utilizada. A SPE foi, ainda, usada para o estudo da labilidade dos complexos metálicos com húmicos.

Abstract

Trace metals are usually present in significant quantities in water/sediment systems such as "Ria de Aveiro" lagoon (Portugal). However, some of this trace metals may be toxic for humans and it becomes of prime importance to be able to assess their mobility, i.e., their ability to migrate to fishes and plants. The aim of this work was to develop and optimise methods of fractionation of trace metals in water and in sediments. The operational character of the labile fraction obtained with methods used to study trace metal fractionation was also evaluated.

The fractionation of copper, cadmium and lead in sediments was performed following the kinetic extraction with EDTA. Initially, several experimental parameters were optimised and two extraction protocols have been compared. The curves of extraction by EDTA as a function of time for the three studied metals were adjusted with two kinetic equations and two kinetic models. It has been showed that the two first order reactions model was the most efficient to fit extraction curves and allowed to separate those metals into three fractions: "quickly extractable", "slowly extractable" and an inert fraction. Then, the optimised fractionation method has been applied to several sediment samples from "Ria de Aveiro" (Portugal) and it has been concluded that the composition of sediment influences the copper and lead fractionation by EDTA.

The fractionation of trace metals in waters were performed using two methods: voltammetry, namely *Anodic Stripping Voltammetry* (ASV) and *Cathodic Stripping Voltammetry with adsorptive accumulation* (AdCSV) and *Solid Phase Extraction* (SPE) with two resins, Chelex 100 and Amberlite CG-50. Relevant experimental parameters were optimised for both methods and they were, then, applied to water samples from "Ria de Aveiro" lagoon. In order to compare the labile fraction of metal obtained with voltammetric techniques and with SPE, these methods were applied to a same water sample. It was showed that labile fractions obtained with AdCSV and SPE with Chelex 100 were similar even though the analysis time of each technique is very different.

SPE was also used to study the operational character of the labile fraction obtained with this technique. It has been shown that the extension of the dissociation of complexed metal depends on the nature of the metal, the ligands and the resin considered. SPE was, also, used to study the lability of humic complexes.

Résumé

Parmi les polluants associés à l'industrialisation et au développement urbain, les éléments traces métalliques font partie des plus préoccupants. En effet, ce sont des contaminants terrestres et aquatiques dont le caractère toxique est rendu insidieux par leur accumulation dans les organismes et par leur bioaccumulation le long des chaînes alimentaires, ce qui les rend dangereux même présents à l'état de traces. Ce sont de plus, des contaminants persistants qui ne sont jamais éliminés mais seulement transférés d'un compartiment naturel à un autre, l'eau étant leur principal vecteur de transport dans leurs cycles biogéochimique.

Un effort important est donc fourni afin d'estimer le danger potentiel représenté par ces éléments dans l'environnement. Il est désormais admis que le risque posé par la présence de métaux dans l'environnement ne dépend pas tant de leur concentration totale mais surtout de leur aptitude à migrer de la phase solide vers les eaux interstitielles puis à se fixer sur différents organismes le long de la chaîne alimentaire. Afin d'estimer cette mobilité, il est d'usage de recourir à des études de fractionnements des métaux.

Le principal objectif de ce travail repose sur le développement et l'optimisation de méthodes de fractionnement d'éléments traces métalliques dans les eaux et les sédiments d'un système lagunaire. Ainsi, ce travail se décompose en deux parties principales: une première consacrée au fractionnement d'éléments traces métalliques dans les sédiments et une seconde consacrée au fractionnement des éléments traces métalliques dans les eaux. Les métaux considérés sont le cuivre, le cadmium et le plomb.

Dans les systèmes aquatiques naturels, les sédiments jouent un rôle clef dans le contrôle des métaux en solution. Par leur capacité d'accumulation, ils reflètent la qualité des eaux en témoignant des pollutions. Mais ils vont aussi, en les accumulant, constituer des réservoirs de polluants susceptibles d'être remobilisés. Ils représentent donc un risque potentiel de pollution des systèmes aquatiques naturels.

Les schémas d'extraction séquentielle, qui consistent en l'utilisation successive de différents réactifs afin d'extraire spécifiquement les métaux fixés aux différentes phases du sédiment (matière organique, oxydes de fer, manganèse ou aluminium, carbonates, sulfures...), sont la méthode la plus utilisée pour déterminer le fractionnement d'éléments traces métalliques dans les sédiments. Cependant, de nombreuses critiques ont été élevées contre cette méthode dénonçant, notamment, le manque de sélectivité des réactifs utilisés ou encore la possible ré-adsorption des métaux.

Dans ce travail, une approche cinétique du fractionnement a été préférée à ces schémas d'extraction séquentielle. Le fractionnement cinétique consiste en l'évaluation des flux de métaux extraits par un réactif qui est, dans notre cas, l'EDTA. Il s'agit donc d'étudier la cinétique d'extraction d'un métal lié au sédiment. Cette approche a l'avantage d'indiquer, en plus des classiques équilibres de distributions, la labilité relative des complexes formés entre les métaux et les différentes phases du sédiment.

Ce type de fractionnement va donc pouvoir révéler des différences de labilité entre des complexes dont les stabilités thermodynamiques peuvent être proches.

Dans un premier temps, nous avons procédé à l'optimisation des conditions expérimentales pour l'étude de la cinétique d'extraction par l'EDTA d'éléments traces métalliques dans le sédiment. Tout ce travail a été réalisé à l'équilibre, raison pour laquelle il a d'abord fallu déterminer le temps nécessaire pour atteindre un état stationnaire entre le sédiment et la solution d'extraction. Il apparaît, qu'au bout de 24 heures, les quantités de métaux extraits par l'EDTA sont quasiment constantes en fonction du temps. Les paramètres expérimentaux optimisés ont été la concentration de la solution d'EDTA, le rapport masse de sédiment/Volume de solution (m/V) et le pH de la solution d'extraction. L'influence de chacun de ces paramètres sur les quantités extraites a été analysée et les conditions optimales d'extractions obtenues sont :

$$[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}; \text{pH} = 6,0; \text{m/V} = 0,15 \text{ Kg.L}^{-1}$$

Deux procédés sont utilisés pour l'étude de la cinétique d'extraction des métaux. Un premier utilise un seul flacon dans lequel sont agités le sédiment et la solution d'extraction ; à chaque temps de la cinétique, une fraction du mélange sédiment/solution est prélevée et la solution filtrée. Un second protocole utilise plusieurs flacons dans lesquels sont agités le sédiment et la solution d'extraction pendant un temps défini ; à chaque temps de la cinétique correspond un flacon unique. Ces deux protocoles ont été comparés en terme de variabilité des résultats et de quantité de cations métalliques extraits. Il a, ainsi, été possible vérifier que le protocole utilisant plusieurs flacons présente une variabilité moindre et permet d'extraire des quantités de cations légèrement supérieures. Ces différences ont été attribuées à la qualité de l'agitation dans chacun des protocoles.

Généralement, les courbes d'extractions obtenues sont simulées par divers modèles afin d'en obtenir des données quantitatives facilement exploitables. Les modèles utilisés ont été le modèle de diffusion et le modèle de deux réactions de premier ordre. Deux équations cinétiques ont également été utilisées. Ces deux modèles et ces deux équations ont été décrits en détails et leurs conditions d'applicabilité ont été analysées. L'équation à deux constantes et l'équation d'Elovich ont été utilisées pour simuler les courbes d'extractions. De meilleurs résultats ont été obtenus avec l'équation à deux constantes mais dans les deux cas, l'utilisation de ces équations est totalement empirique.

Le modèle de diffusion permet un bon ajustement des courbes d'extractions uniquement pour des temps inférieurs à une heure. Par conséquent, il est probable que l'extraction de cations métalliques par l'EDTA dans cet intervalle de temps soit contrôlée par diffusion.

L'ajustement des courbes d'extractions par le modèle de deux réactions de premier ordre est très efficace pour les 3 métaux et sédiments considérés. Il a ainsi été possible de déterminer, pour chaque métal et dans chaque sédiment, trois fractions de métal : une fraction F1 rapidement extraite, une fraction F2 lentement extraite et une fraction F3 inerte. Il apparaît ainsi que le cuivre est des trois métaux étudiés le plus lentement extrait. Les résultats obtenus avec ce modèle ont permis d'établir des corrélations entre la composition du sédiment et la distribution du cuivre et du plomb entre les trois fractions F1, F2 et F3. Il a ainsi été possible de conclure que la cinétique d'extraction par l'EDTA des métaux dépend du métal considéré et de la composition du sédiment.

La deuxième partie de ce travail a été consacrée à l'étude du fractionnement des éléments traces métalliques dans les eaux naturelles. Pour cela, deux techniques différentes ont été utilisées :

- la voltamétrie, et plus précisément la voltamétrie de redissolution anodique (ASV) et la voltamétrie de redissolution cathodique (AdCSV) avec comme ligand compétiteur l'hydroxiquinoline.
- l'extraction en phase solide (SPE) avec les résines d'échanges cationiques Chelex 100 e Amberlite CG-50.

Ces techniques voltamétriques sont, depuis de nombreuses années, utilisées pour l'étude du fractionnement des métaux dans les eaux. Il est, cependant, nécessaire de procéder à l'optimisation de ces techniques avant leur utilisation. Ainsi, les principaux paramètres expérimentaux comme le temps d'accumulation, le potentiel d'accumulation ou le potentiel initial de balayage ont été optimisés pour chacune des techniques voltamétriques. Les conditions optimales, déterminées au cours de ce travail, pour l'étude du fractionnement du cuivre, du plomb et du cadmium par AdCSV sont :

- Concentration d'hydroxiquinoline : $1 \cdot 10^{-5}$ M
- Concentration de tampon HEPES : $1 \cdot 10^{-4}$ M
- Potentiel d'accumulation : -1,1 V
- Temps d'accumulation : 60 ou 120 secondes selon la concentration de métal
- Potentiel initial de balayage : -0,15 V ou -0,43 V
- Technique de redissolution : « Differential Pulse »

Le pic du plomb peut parfois être masqué par le pic du cuivre. De manière, à réduire cette interférence, le balayage de potentiel peut être débuté juste après le pic du cuivre à -0,43 V.

Avant l'application de l'AdCSV a des échantillons d'eaux naturelles, la sensibilité, la limite de détection et la reproductibilité de cette technique ont été estimées. Pour cela, plusieurs droites d'étalonnages ont été réalisées avec des solutions salines et des solutions non salines. En effet, les échantillons d'eaux analysés au cours de ce travail proviennent d'une lagune côtière et peuvent donc présenter une certaine salinité. Il a ainsi été montré que l'AdCSV est plus sensible dans le cas du cuivre que dans le cas du cadmium ou du plomb.

Dans un deuxième temps, les deux techniques utilisées, l'AdCSV et l'ASV, ont été comparées. Ainsi, il apparaît que l'AdCSV est plus sensible que l'ASV notamment dans le cas du cuivre. Le seuil de détermination de l'AdCSV est également plus bas que celui de l'ASV ce qui rend cette technique plus performante pour l'étude du fractionnement des métaux dans les eaux naturelles lorsque ceux-ci sont présents à l'état de trace.

La deuxième technique utilisée pour l'étude du fractionnement de métaux dans les eaux naturelles a été l'extraction en phase solide. Pour cela deux résines échangeuses d'ions ont été utilisées : la résine Chelex 100 qui est une résine chelatante forte et la résine Amberlite CG-50 qui est une résine d'échange cationiques plus faible.

Les conditions expérimentales optimales pour l'étude par SPE du fractionnement du cuivre, du plomb et du cadmium dans les eaux naturelles ont été déterminées en se basant sur les différents travaux déjà réalisés par SPE. Cependant, avant l'application de cette technique à des échantillons d'eau provenant de la « Ria de Aveiro », différentes études ont été réalisées avec des solutions de métaux de manière à vérifier que tout les métaux extraits par les résines sont récupérés par élution avec de l'acide nitrique ou encore pour contrôler les blancs d'extractions (expérience réalisée sans métaux pour vérifier la pureté des résines et le lavage du matériel utilisé).

L'extraction en phase solide avec les résines Chelex 100 et Amberlite CG-50 a ensuite été utilisée pour déterminer le fractionnement du cuivre, du cadmium et du plomb dans des échantillons d'eaux provenant de la « Ria de Aveiro ». Il a ainsi été montré que la fraction labile de métal déterminé avec la résine Chelex 100 est supérieure à celle déterminée avec la résine Amberlite CG-50 dans le cas du cuivre et du cadmium mais que ces deux résines présentent une fraction labile identique dans le cas du plomb. L'ensemble des techniques utilisées dans ce travail pour l'étude du fractionnement de métaux traces dans les eaux ont finalement été comparées entre elles en étant appliquées à un même échantillon d'eau. Il a, ainsi, été montré que l'AdCSV et la SPE avec la résine Chelex 100 permettent d'obtenir des fractions labiles de cuivre du même ordre de grandeur. De plus, cette comparaison a permis de mettre en évidence le caractère opérationnel de la fraction labile de métal déterminée avec ces techniques.

Le caractère opérationnel de la fraction labile de métal déterminée par SPE a ensuite été étudié plus en détails. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'influence des conditions expérimentales, notamment du temps

d'extraction, du rapport masse de résine/volume de solution ou encore de la salinité sur la capacité d'extraction des résines Amberlite CG-50 et Chelex 100. Il a ainsi été mis en évidence la compétition entre les cations majoritaires présents dans les eaux salées et les métaux traces pour l'extraction par les résines. Il a, de plus, été montré que les ligands inorganiques présents dans les eaux salées peuvent, en complexant les métaux traces, également diminuer l'efficacité des résines notamment dans le cas de la résine Amberlite CG-50 qui est moins forte. Une deuxième étude a permis de comparer la fraction labile de métal déterminée par SPE et la fraction de métal libre dans des solutions synthétiques contenant des métaux et des ligands organiques. Il a ainsi été montré que la labilité des complexes dépend du métal, du ligand et de la résine considérés. De plus, contrairement à ce qui est affirmé par différents auteurs, cette étude a montré que les deux résines utilisées sont capables de provoquer la dissociation des mêmes complexes mais dans des proportions différentes (la résine Chelex 100 permet de provoquer la dissociation d'une fraction de complexe supérieur à celle dissociée en présence de la résine Amberlite CG-50). Ainsi, les résultats obtenus au cours de ce travail montrent que, pour les complexes étudiés, il est faux d'affirmer que la résine Chelex 100 est capable d'extraire des métaux provenant de la dissociation de complexes forts et que la résine Amberlite CG-50 ne permet d'extraire que des métaux provenant de la dissociation de complexes plus faibles.

Finalement, nous avons procédé à l'étude de la labilité des complexes de cuivre formés avec la matière humique. Pour cela, il a fallu mettre au point une méthode permettant de déterminer la concentration de cuivre non complexé par des ligands organiques dans une solution d'eau salée en équilibre avec une résine faible. En effet, dans le cas des acides humiques, les constantes d'équilibre des complexes ne sont pas connues et, donc, la détermination de la spéciation par calcul est impossible. Il existe différentes méthodes utilisées dans des eaux non salées mais aucune ne propose de solutions pour les eaux salées. La méthode mise au point a, d'abord, été testée avec une solution d'acide citrique en équilibre avec la résine Dowex 50W-X8. La valeur de la concentration de cuivre non complexé par des ligands organiques déterminée avec cette technique a été comparée à la valeur calculée avec un programme de calcul de spéciation (CHEAQS), ce qui a permis de valider la méthode. Celle-ci a, ensuite, été utilisée pour comparer la fraction labile de cuivre déterminée par SPE avec les résines Chelex 100 et Amberlite CG-50 et la fraction de cuivre non complexé par des ligands organiques dans une solution synthétique d'eau salée contenant du cuivre et des acides humiques. Cette solution a, tout d'abord, été mise en contact avec la résine Dowex 50W-X8 jusqu'à ce soit atteint un état d'équilibre, de manière à déterminer la concentration de cuivre non complexé par des ligands organiques dans la solution à l'équilibre. Puis, dans cette même solution, la fraction labile de cuivre a été déterminée par SPE avec les résines Chelex 100 et Amberlite CG-50. Les résultats obtenus ont montré que la fraction labile déterminée avec une des deux résines est bien supérieure à la fraction de métal non complexé par des ligands organiques.

Cependant, cette étude présente un certain nombre de limitations qui empêchent toute corrélation avec le milieu naturel. En effet, les concentrations de métaux et d'acides humiques utilisées sont bien supérieures à celle rencontrées dans les eaux naturelles. De plus, les acides humiques utilisés sont d'origine commerciale.

En conclusion, les principaux objectifs de ce travail ont été atteints. En effet, Il a été démontré que le protocole proposé de fractionnement cinétique des métaux avec l'EDTA, associé au modèle cinétique de deux réactions du premier ordre permet de diviser les métaux présents dans les sédiments en trois fractions caractérisées par la cinétique d'extraction des métaux par l'EDTA. Dans le cas des eaux, plusieurs techniques de fractionnement ont été optimisées puis appliquées à des échantillons d'eaux provenant de la « Ria de Aveiro ». Ceci a permis de mettre en évidence le caractère opérationnel de la fraction de métal labile déterminée avec ces techniques notamment dans le cas de l'extraction en phase solide pour laquelle ce domaine a été traité plus en détails.

ÍNDICE

Índice de Tabelas	xxxí
Índice de Figuras	xxxvii
Glossário de abreviaturas e símbolos	xliii
Objectivos da tese.....	xlvií

I. Introdução.....1

I.1. Os metais vestigiais no meio aquático natural	2
I.2. Toxicidade e especiação dos metais vestigiais.....	4
I.3. Especiação química ou fraccionamento?	6
I.4. Referências	8

II. Fraccionamento de Metais Vestigiais em Sedimentos Estuarinos 11

II.1. Introdução.....13

II.1.1. Composição do sedimento	13
II.1.2. Fixação dos metais vestigiais nos sedimentos	15
II.1.3. Importância dos sedimentos na regulação da concentração dos metais vestigiais em solução	16
II.1.4. Caracterização dos metais vestigiais no sedimento	18
II.1.4.1. Os fraccionamentos operacionais	18
II.1.4.1.1. Os fraccionamentos funcionais.....	19
II.1.4.1.2. Protocolos de extracções sequenciais.....	20
II.1.4.1.2.1. Protocolo de <i>Tessier et al. (1979)</i>	20
II.1.4.1.2.2. Outros protocolos de extracções sequenciais	21
II.1.4.1.3. Problemas e artefactos dos protocolos de extracções sequenciais	22
II.1.4.1.3.1. Readsorção dos metais extraídos	22
II.1.4.1.3.2. Falta de selectividade dos agentes de extracção.....	22
II.1.4.1.3.3. Falta de independência dos resultados perante o protocolo usado ...	23
II.1.4.2. O fraccionamento cinético	24

xxiv

II.3.2.4.1. Extracção dos metais vestigiais pelo HNO_3	61
II.3.2.4.2. Influência do pH da solução de EDTA sobre a extracção de metais vestigiais	65
II.3.2.4.2.1. Efeito do pH inicial da solução de EDTA sobre a quantidade extraída de metais	65
II.3.2.4.2.2. Influência do pH inicial sobre a variação do pH da solução de extracção	67
II.3.2.4.2.3. Conclusão	69
II.3.2.5. Capacidade de extracção do EDTA.....	69
II.3.2.6. Conclusão preliminar	70
II.3.3. Comparação de dois protocolos de extracção	71
II.3.3.1. Descrição dos protocolos.....	71
II.3.3.2. Comparação da variabilidade dos protocolos.....	74
II.3.3.3. Quantidade de metais extraídos e variação do pH	79
II.3.4. Conclusão	83
II.4. Estudo da cinética de extracção pelo EDTA de metais vestigiais em sedimentos estuarinos: aplicação e comparação de equações e modelos cinéticos	85
II.4.1. Introdução.....	85
II.4.2. Descrição e análise das curvas de extracção pelo EDTA do cobre, cádmio e chumbo no sedimento.....	86
II.4.3. Ajuste das curvas de extracção com a equação de duas constantes e a equação de Elovich.....	90
II.4.3.1. A equação de duas constantes	91
II.4.3.2. A equação de Elovich	93
II.4.3.3. Comparação dos resultados obtidos com as duas equações	94
II.4.4. Modelo da difusão.....	97
II.4.5. O modelo de duas reacções de primeira ordem	102
II.4.6. Análise dos resultados obtidos com o modelo de duas reacções de primeira ordem..	105
II.4.6.1. Distribuição do cobre, do cádmio e do chumbo entre as três fracções $F1$, $F2$ e $F3$	106
II.4.6.2. Influência da composição do sedimento sobre a extracção do cobre e do chumbo pelo EDTA.....	108
II.4.7. Conclusão	111
II.5. Referências	112

III. Fracionamento de Metais Vestigiais em Águas Estuarinas.....	117
III.1. Introdução	119
III.1.1. Espécies metálicas em águas naturais	119
III.1.2. A relevância da concentração de ião metálico presente na forma livre - modelo da actividade do ião livre	121
III.1.3. Noções de labilidade e de janela de detecção analítica das técnicas de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais	122
III.1.4. Métodos de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais	125
III.1.4.1. Métodos Voltamétricos	126
III.1.4.1.1. Princípios e fundamentos teóricos dos métodos voltamétricos de redissolução	126
III.1.4.1.1.1. Etapa de pré-concentração.....	127
III.1.4.1.1.2. Etapa de equilibração.....	131
III.1.4.1.1.3. Etapa de redissolução	131
III.1.4.1.1.4. Voltametria diferencial por impulsos.....	133
III.1.4.1.1.5. Voltametria de onda quadrada.....	134
III.1.4.1.2. Métodos voltamétricos em estudos de fracionamento	136
III.1.4.1.2.1. Voltametria de redissolução anódica (ASV)	137
III.1.4.1.2.2. Voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva (AdCSV).....	140
III.1.4.2. Método de Extracção em Fase Sólida (SPE)	143
III.1.4.2.1. Etapas da extracção em fase sólida	144
III.1.4.2.2. Composição da fase estacionária.....	144
III.1.4.2.2.1. Fases estacionárias utilizadas neste trabalho.....	147
III.1.4.2.3. Preparação e condicionamento da fase estacionária	149
III.1.4.2.4. Factores que influenciam a fixação do analito na fase estacionária	150
III.1.4.2.5. Lavagem e eluição da fase estacionária.....	152
III.2. Detalhes experimentais usados no fraccionamento de metais vestigiais em águas estuarinas.....	155
III.2.1. Reagentes e Soluções.....	155
III.2.2. Amostras de águas naturais	156
III.2.3. Lavagem do material	156
III.2.4. Instrumentação e procedimento geral utilizado nos métodos voltamétricos	157

III.2.4.1. Instrumentação.....	157
III.2.4.2. Procedimento Geral.....	157
III.2.4.3. Determinação da intensidade dos picos nos voltamogramas obtidos por ASV e AdCSV.....	158
III.2.5. Procedimento geral utilizado no método de extracção em fase sólida	160
III.2.5.1. Lavagem das resinas	160
III.2.5.2. Procedimento de base	161
III.2.5.3. Determinação da concentração de metais por F-AAS e ASV no ácido de eluição das resinas	161
III.2.6. Tratamento estatístico dos resultados.....	162
III.3. Técnicas voltamétricas de fraccionamento de metais vestigiais em águas estuarinas: optimização dos métodos.....	165
III.3.1. Introdução	165
III.3.2. Voltametria de redissolução catódica com acumulação adsorptiva (AdCSV).....	166
III.3.2.1. Efeito da concentração de oxina e do pH da solução estudada.....	166
III.3.2.2. Efeito do potencial de acumulação E_{ac} e do potencial inicial de varrimento E_j	168
III.3.2.3. Efeito do tempo de acumulação	170
III.3.2.4. Efeito da técnica electroanalítica usada na etapa de redissolução.....	172
III.3.2.5. Efeito da velocidade de varrimento na etapa de redissolução por DP	175
III.3.2.6. Rectas de calibração.....	176
III.3.3. Voltametria de redissolução anódica (ASV)	180
III.3.3.1. Efeito da técnica electroanalítica usada na etapa de redissolução.....	180
III.3.3.2. Efeito do tempo de acumulação	182
III.3.3.3. Rectas de calibração.....	185
III.3.3.4. Comparação da ASV (SW) e da AdCSV (DP).....	187
III.3.4. Conclusão.....	190
III.4. Fraccionamento de metais vestigiais em águas estuarinas por extracção em fase sólida.....	191
III.4.1. Introdução	191
III.4.2. Fraccionamento de cobre, cádmio e chumbo em águas naturais por extracção em fase sólida	192
III.4.2.1. Escolha das condições experimentais	192

III.4.2.2. Determinação por voltametria de redissolução anódica dos metais presentes no ácido de eluição das resinas	194
III.4.2.3. Controle da extracção com resinas de troca iónica e quelantes do cobre, cádmio e chumbo presente em águas.....	195
III.4.2.3.1. Brancos de extracção	195
III.4.2.3.2. Estudo da recuperação dos metais removidos pela resina	197
III.4.2.3.3. Variação do pH ao longo da extracção	198
III.4.2.4. Aplicação da extracção em fase sólida ao fraccionamento de cobre, cádmio e chumbo em águas naturais.....	200
III.4.3. Comparação da extracção em fase sólida com métodos voltamétricos de fraccionamento.....	202
III.4.3.1. Métodos de fraccionamento utilizados.....	202
III.4.3.2. Fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo determinada pelos vários métodos de fraccionamento	203
III.4.4. Conclusão.....	206
III.5. O carácter operacional da fracção lábil determinada por SPE	207
III.5.1. Introdução	207
III.5.2. Influência das condições experimentais sobre a eficiência de extracção das resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50.....	209
III.5.2.1. Factores que afectam a variação do pH ao longo da extracção por SPE	209
III.5.2.2. Influência da salinidade, da razão (massa de resina/volume de solução) e do tempo de extracção na fracção extraída por SPE	212
III.5.3. Comparação da fracção livre e da fracção lábil de metal determinada por SPE em soluções sintéticas na presença de vários ligandos orgânicos.....	216
III.5.3.1. Carácter operacional da fracção lábil de metal determinada por SPE	216
III.5.3.1.1. Introdução	216
III.5.3.1.2. Soluções e condições experimentais usadas	217
III.5.3.1.3. Relação entre a fracção de metal livre e a fracção lábil de metal determinada por SPE.....	218
III.5.3.1.4. Extensão da dissociação dos complexos.....	221
III.5.3.2. Competição e interferências de outros metais na labilidade de complexos metálicos por SPE.....	223
III.5.4. Conclusão.....	225

III.6. Estudo por SPE da labilidade de complexos metálicos com a matéria húmica	227
III.6.1. Introdução	227
III.6.2. Teoria do método de determinação da fracção de metal (livre + inorgânico) numa solução salina de metal e substâncias húmicas.....	228
III.6.3. Determinação do coeficiente de distribuição K_D ' do cobre na resina Dowex 50W-X8.....	233
III.6.4. Aplicação do método à determinação de $[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}}$ numa solução de metal e ligandos orgânicos em água salgada	235
III.6.4.1. Validação do método com uma solução de cobre e ácido cítrico em água salgada sintética.....	235
III.6.4.2. Aplicação do método a soluções de cobre e ácidos húmicos em água salgada sintética.....	237
III.6.5. Comparação da fracção lábil determinada por extracção em fase sólida com a fracção de metal livre e inorgânico na presença de ligandos húmicos	238
III.6.5.1. Determinação da concentração de cobre livre e inorgânico.....	238
III.6.5.2. Fracção lábil de cobre determinada por extracção em fase sólida.....	240
III.6.6. Conclusão.....	241
III.7. Referências	242
 IV. Conclusão Geral	 253
 V. ANEXOS.....	 257
V.1. Anexo I - Problemas de interferências e contaminações nos métodos voltamétricos...	258
V.2. Anexo II – Constantes de estabilidade dos complexos formados com a oxina (Martell e Smith, 1979).....	260
V.3. Anexo III – Constantes de estabilidade dos complexos formados com o EDTA, o NTA e o ácido cítrico (Martell e Smith, 1979)	261
V.4. Anexo IV – Optimização do processo de destruição da matéria orgânica nas águas por acidificação e irradiação por ultra-violeta.....	263
V.5. Anexo V - Localização da zona de amostragem dos sedimentos estudados.....	265

Índice de Tabelas

Tabela I.1: Concentração de Cd, Cu e Pb em vários compartimentos ambientais (<i>Ademe, 1995; Stumm e Morgan, 1995</i>) - M. S.: Material Seco.	3
Tabela II.1.1: Principais sítios e tipos de ligação dos metais vestigiais nos sedimentos (<i>Bordas, 1998</i>) ...	15
Tabela II.1.2: Agentes de extracção e fracção de metal associada usados na maioria dos protocolos de extracções sequenciais.	20
Tabela II.1.3: Protocolo de extracções sequenciais de <i>Tessier et al. (1979)</i>	21
Tabela II.1.4: Protocolo de extracções sequenciais do BCR (<i>Ure, 1993</i>).....	22
Tabela II.1.5: Modelo da difusão - Valores da contribuição de $\frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right)$ para o valor total de ML_t / ML_∞ determinados para vários valores de n e de t , com $D/a^2 = 9 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$	32
Tabela II.1.6: Logaritmo das constantes de complexação do EDTA (Y^{4-}) com os cationes metálicos (M^{n+}) mais comuns. K_{MY} corresponde a constante da reacção $M + Y \leftrightarrow MY$, K_{MHY} corresponde a constante da reacção $MY + H \leftrightarrow MHY$ e K_{MOHY} corresponde a constante da reacção $MY + OH \leftrightarrow MOHY$ (<i>Ringbom, 1987</i>).	39
Tabela II.2.1: Características químicas dos sedimentos estudados.....	43
Tabela II.3.1: Variação da concentração de Cu, Cd, Pb e Fe extraído pelo EDTA com o tempo de extracção $\left(\frac{\Delta C_{\text{ext}}}{\Delta t} \right)$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) em 3 intervalos de tempo - Sedimento 4B com EDTA (0,05 M) a pH = 6,0 e $m/V = 0,15 \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$	49
Tabela II.3.2: Variação máxima da concentração de Cu, Pb e Cd extraída pelo EDTA com várias razões m/V	52
Tabela II.3.3: Constantes de formação dos hidróxidos $M(\text{OH})^{(n-1)+}$ ($\log K$); $I = 0,1 \text{ M}$ (<i>Martell e Smith, 1973-1989</i>)	62
Tabela II.3.4: Variações máximas das quantidades de Cu, Cd e Pb extraídas pelo EDTA com vários pH nos sedimentos 1B, 2B e 4B.	67
Tabela II.3.5: Variação de pH durante a extracção de metais pelo EDTA (0,05 M) com diferentes valores de $\text{pH}_{\text{inicial}}$, no caso dos sedimentos 1B, 2B, 3B e 4B.....	68

Tabela II.3.6: Capacidade de extracção do EDTA: comparação da concentração total de metal e da concentração de metal extraído pelo EDTA (0,05M); pH = 4,5 e m/V = 0,15 kg.L ⁻¹ . C_{ext} : Concentração de metal extraído pelo EDTA ($\mu\text{g/g}$), C_{tot} : Concentração total de metal ($\mu\text{g/g}$) e $\%_{\text{ext}}$: percentagem de metal extraído.	70
Tabela II.3.7: Comparação dos protocolos de extracção - valor de r calculado para cada protocolo.	76
Tabela II.3.8: Valores do desvio padrão comum S_c obtidos no caso da extracção pelo EDTA de Cu, Cd e Pb e Fe do sedimento 4B com os dois protocolos de extracção.	77
Tabela II.3.9: Valores calculados e tabelados de F no caso do Cu, do Pb, do Cd e do Pb (teste de Fischer –Snedecor).....	78
Tabela II.3.10: Parâmetros da recta de correlação entre as quantidades de Cu, Cd, Pb e Fe extraídas com os protocolos I e II; sedimento 4B.....	81
Tabela II.4.1: Desvio padrão relativo (%) associado às curvas de extracção pelo EDTA do Pb, Cd e Cu nos sedimentos 1C, 4B e 4C (4 réplicas). Os valores apresentados são o valor médio e, entre parênteses, o valor mínimo e o valor máximo.....	87
Tabela II.4.2: Percentagem de metal extraído pelo EDTA após uma hora de extracção.....	89
Tabela II.4.3: Parâmetros obtidos no ajuste das curvas de extracção com a equação de duas constantes: valores das constantes A e B (4 réplicas) e do coeficiente de correlação r . O valor de P é sempre inferior a 10^{-4} . Está também apresentado o valor da concentração de metal extraído ao fim de uma hora.....	92
Tabela II.4.4: Parâmetros obtidos no ajuste das curvas de extracção com o modelo de Elovich: valores das constantes a e b (4 réplicas) e do coeficientes de correlação r . O valor de P é sempre inferior a 10^{-4}	94
Tabela II.4.5: Valores do erro padrão SE ($\mu\text{g.g}^{-1}$) determinado no caso da equação de duas constantes e da equação de Elovich.	95
Tabela II.4.6: Valores da constante $k = D\pi^2/a^2$ (h^{-1}), do coeficiente de correlação r e do erro padrão SE ($\mu\text{g.g}^{-1}$) determinados no caso do modelo da difusão. O valor de P é sempre inferior a 10^{-4}	98
Tabela II.4.7: Erro do modelo da difusão associado ao valor de ML_t/ML_∞ determinado para vários valores de t com $n=8$ e os valores máximos e mínimos de D/a^2 aqui determinados.....	98
Tabela II.4.8: Valores do coeficiente de correlação r , do erro padrão SE ($\mu\text{g.g}^{-1}$) e de P determinados no caso do modelo da difusão para tempos de extracção curtos ($t < 1$ hora).....	101

Tabela II.4.9: Valores de Q°_1 , Q°_2 , do coeficiente de correlação r e do erro padrão SE obtidos com o modelo de duas reacções de primeira ordem para Cu, Cd e Pb nos sedimentos 1C, 4C e 4B. O valor de P é sempre inferior a 10^{-4} .	103
Tabela III.3.1: Efeito do potencial de acumulação e do potencial inicial de varrimento sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por AdCSV (DP) numa solução $1,00 \times 10^{-5}$ M em oxina, $1,00 \times 10^{-4}$ M em HEPES e $16,7 \times 10^{-9}$ M em Cu^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} . Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.	169
Tabela III.3.2: Condições experimentais usadas no estudo de comparação entre a AdCSV(DP) e a AdCSV (SW).	172
Tabela III.3.3: Variação da intensidade dos picos de chumbo e cádmio obtidos por AdCSV com a velocidade de varrimento. Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.	175
Tabela III.3.4: Resultados da calibração relativos a determinação de Cu(II), Cd(II) e Pb(II) em água ultrapura por AdCSV (DP). Condições experimentais: $E_{ac} = -1,1$ V; $t_{ac} = 120$ s; $E_i = -0,15$ V; $E_f = -0,850$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento = $0,02$ V/s; (l.d.d: limite de detecção).	177
Tabela III.3.5: Resultados da calibração relativos a determinação por AdCSV (DP) de Cu(II), Cd(II) e Pb(II) numa solução sintética de água salgada. $E_{ac} = -1,1$ V; $t_{ac} = 120$ s; $E_i = -0,15$ V ou $-0,4$ V; $E_f = -0,85$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento = $0,02$ V/s; (l.d.d:limite de detecção).	179
Tabela III.3.6: Resultados da calibração relativos a determinação de cobre, chumbo e cádmio em água salgada por ASV com detecção por onda quadrada; níveis de concentração na ordem 1×10^{-9} M; $t_{ac} = 120$ s. (l.d.d: limite de detecção).	186
Tabela III.3.7: Resultados da calibração relativos a determinação de cobre (concentrações da ordem dos micromolar) em água salgada por ASV com detecção por onda quadrada; tempo de acumulação = 60 segundos. (l.d.d: limite de detecção)	186
Tabela III.3.8: Resultados da calibração relativos a determinação de cobre, chumbo e cádmio em água salgada por ASV com detecção por onda quadrada e por AdCSV com detecção por diferencial por impulsos; níveis de concentração na ordem 1×10^{-9} M; $t_{ac} = 120$ s.(l.d.d: limite de detecção)	188
Tabela III.4.1: Condições óptimas para preconcentração de metais com a resina Chelex 100 em amostras de água salgada (<i>Cheng et al., 1987</i>)	193
Tabela III.4.2: Valores do branco de extracção do cobre, cádmio e chumbo obtidos em experiências diferentes com a Amberlite CG-50 e a Chelex 100 (50-100 mesh). Factor de preconcentração de 25. (*: inferior ao limite de detecção)	196

Tabela III.4.3: Percentagens de recuperação de cobre, de cádmio e de chumbo em água ultrapura obtidas com a Amberlite CG-50 e a Chelex 100 – valor médio e desvio padrão de N réplicas.....	198
Tabela III.4.4: Concentração total e concentração da fracção lábil (média e desvio padrão de três réplicas) de cobre, cádmio e chumbo determinada com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50. Factor de pré-concentração = 25. Entre parênteses está indicado o valor do desvio padrão relativo da concentração da fracção lábil.....	201
Tabela III.4.5: Concentrações totais e percentagens da fracção lábil de cobre, chumbo e cádmio determinadas com os vários métodos de fraccionamento. Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.	203
Tabela III.5.1: Composição das soluções A e B e condições experimentais utilizadas.	210
Tabela III.5.2: Composição da solução e condições experimentais utilizadas.	210
Tabela III.5.3: Variação do pH durante a extracção com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 na forma Na^+ e H^+	211
Tabela III.5.4: Concentração total de metais em solução e condições experimentais utilizadas.	212
Tabela III.5.5: Percentagens (%) de remoção, pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50, de cobre, cádmio e chumbo numa solução preparada em água ultrapura ou água salgada ; $m_r/V_s = 1\text{ g.L}^{-1}$; 1 hora de extracção. Média de pelo menos três réplicas e desvio padrão respectivo.....	213
Tabela III.5.6: Percentagens (%) de remoção de cobre, cádmio e chumbo em água salgada obtidas com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 com vários tempos de extracção e $m_r/V_s = 10\text{ g.L}^{-1}$. Média de três réplicas e desvio padrão respectivo.	214
Tabela III.5.7: Composição das soluções utilizadas no presente estudo.....	218
Tabela III.5.8: Fracção de metal livre e fracção lábil de metal determinada em cada solução com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50 no caso do cobre, do cádmio e do chumbo. Média de três réplicas.....	220
Tabela III.5.9: Percentagem (%) de dissociação dos complexos de cobre, cádmio e chumbo com os três ligandos orgânicos estudados durante a extracção (Média de três replicas).....	222
Tabela III.5.10: Composição das soluções utilizadas no estudo da competição e interferências de outros metais sobre a labilidade dos complexos metálicos; o valor da fracção de catião metálico livre esta apresentado entre parênteses.	224
Tabela III.5.11: Razão (fracção de metal livre (%) /fracção lábil de metal (%)) determinada em cada solução com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50.	225

Tabela III.6.1: Valor experimental do coeficiente de distribuição K_D' (Cu^{2+}) da resina Dowex 50W-X8 na forma $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ a pH 7,0 e outros parâmetros da recta $[M]_r = f([M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}})$	234
Tabela III.6.2: Valores experimentais e calculados da concentração de cobre (livre + inorgânico) nas soluções A e B em equilíbrio com a resina.....	236
Tabela III.6.3 : Composição das soluções de cobre e ácidos húmicos em água salgada e NaNO_3	237
Tabela III.6.4: Concentração de cobre total e de cobre livre e inorgânico na solução em equilíbrio com a resina Dowex 50W-X8 na forma Na^+/Mg	238
Tabela III.6.5: Resultados da determinação da concentração de metal livre por equilibração com a Dowex 50W-X8 na solução estudada (média e desvio padrão de três réplicas).	239
Tabela III.6.6 : Fração lábil de metal (concentração e percentagem em relação a concentração total de metal) determinada por extracção em fase sólida com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50.....	240

Índice de Figuras

Figura II.1.1: Composição dos sedimentos (Martin et al.,1987, segundo Jenne, 1968).	14
Figura II.1.2: Regulação dos metais em solução e passagem para os sedimentos (Bordas, 1998).	16
Figura II.1.3: Etapas de adsorção/desorção dos iões metálicos no sedimento (van Leeuwen, 1992).	25
Figura II.1.4: Ilustração das fracções de metal obtidas com o modelo de duas reacções de primeira ordem.....	36
Figura II.3.1: Influência do tempo de extracção sobre a concentração por grama de sedimento de Cd, Cu, Pb e Fe extraído pelo EDTA. Média e desvio padrão de duas réplicas. Sedimento 4B e EDTA (0,05 M) a pH = 6,0; m/V = 0,15 kg.L ⁻¹	50
Figura II.3.2: Influência da razão m/V sobre a quantidade de Cu, Cd e Pb extraída por grama de sedimento (sedimento 1B(×) e 2B(+)); EDTA (0,05M) a pH = 4,5; média de duas réplicas e desvio padrão.....	53
Figura II.3.3: Influência da razão m/V sobre a quantidade de Fe e Ca extraída por grama de sedimento (sedimento 1B (×) e 2B(+)); EDTA (0,05M) a pH = 4,5; média de duas réplicas e desvio padrão.....	54
Figura II.3.4: Variação do pH da solução de extracção em função da razão m/V (sedimento 1B (×) e 2B(+)); EDTA (0,05M) a pH = 4,5.	55
Figura II.3.5: Efeito da concentração de EDTA sobre a quantidade extraída de Cu, Cd e Pb no Sedimento 4B; pH=6,0; m/V=0,15 kg.L ⁻¹ (media de três replicas com desvio padrão).....	58
Figura II.3.6: Representação da dissociação do EDTA em função do pH (Pribil, 1972).....	58
Figura II.3.7: Influência do pH inicial e da concentração de EDTA sobre a variação do pH da solução de EDTA durante a extracção de metais; Δ: [EDTA] = 0,001M; □: [EDTA] = 0,01M; ○: [EDTA] = 0,05 M.....	59
Figura II.3.8: Quantidade de Cu, Pb, Cd e Fe extraída por grama de sedimento na ausência de EDTA, em função do pH; Sedimento 2A (2 réplicas).	63
Figura II.3.9: Quantidade de Cu, Pb, Cd e Fe extraída por grama de sedimento na ausência de EDTA, em função do pH; Sedimento 3A (2 réplicas).	64

Figura II.3.10: Extracção de Cu, Pb, Cd e Pb pelo EDTA (0,05 M) com vários valores de pH inicial; $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$; Sedimento 4B	66
Figura II.3.11: Variação do pH durante a extracção dos metais pelo EDTA.- o: sedimento 1B; Δ : sedimento 2B; \square : sedimento 3B; \diamond : sedimento 4B.....	68
Figura II.3.12: Curvas de extracção pelo EDTA do cobre e do chumbo do Sedimento 4B em função do tempo usando os protocolos I e II. $[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$ e $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$	72
Figura II.3.13: Curvas de extracção pelo EDTA do cádmio e do ferro do Sedimento 4B em função do tempo usando os protocolos I e II. $[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$ e $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$	73
Figura II.3.14: Variabilidade das quantidades de Cu, Cd, Pb e de Fe extraídas pelo EDTA com os protocolos I e II; média e desvio padrão de 4 réplicas realizadas com o sedimento 4B. $[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$, $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$	75
Figura II.3.15: Correlação entre as concentrações de Cu, Cd, Pb e Fe extraído pelo EDTA com os protocolos I e II no sedimento 4B. A linha a tracejado representa a situação em que C_{ext} (protocolo I) = C_{ext} (protocolo II)	80
Figura II.3.16: Variação do pH durante a extracção com o EDTA usando os protocolos I e II. Estão representadas a média de 4 réplicas e desvio padrão respectivo. +: protocolo I ; \times : protocolo II.....	82
Figura II.4.1: Curvas de extracção pelo EDTA (0,05 M; $\text{pH} = 6,0$) do Cu, Cd e Pb nos sedimentos 1C e 4C; valores médios de 4 réplicas e desvios padrão respectivos.	88
Figura II.4.2: Curvas experimentais de extracção cinética pelo EDTA (0,05 M; $\text{pH} = 6,0$) do Cu, Cd e Pb no sedimento 1C e ajuste pelo equação à duas constantes (—) e pela equação de Elovich (----).....	96
Figura II.4.3: Curvas experimentais de extracção cinética pelo EDTA (0,05 M; $\text{pH} = 6,0$) do Cu, Cd e Pb no sedimento 4C e ajuste pelo modelo da difusão.	100
Figura II.4.4: Curvas experimentais de extracção cinética pelo EDTA (0,05 M; $\text{pH} = 6,0$) do Cu, Cd no sedimento 4C e ajuste pelo modelo da difusão; tempos de extracção inferiores a uma hora (Nota: não se representou aqui o caso do chumbo devido à grande variabilidade dos resultados.).....	101
Figura II.4.5: Curvas experimentais de extracção cinética pelo EDTA (0,05 M; $\text{pH} = 6,0$) do Cu, Cd e Pb no sedimento 1C e ajuste pelo modelo de duas reacções de primeira ordem.....	104

Figura II.4.6: Distribuição do cobre, cádmio e chumbo entre as fracções F1, F2 e F3 nos sedimentos 1C, 4C e 4B.	107
Figura II.4.7: Influência da matéria orgânica (MO), carbonato (CO ₃) e ferro (Fe) sobre a extracção do cobre e do chumbo pelo EDTA. As fracções Fn são exprimidas em % da quantidade total de metal. A percentagem de matéria orgânica, carbonato e ferro é expressa em relação a maior quantidade.	110
Figura III.1.1: Representação esquemática da realização experimental da voltametria de redissolução com varrimento linear do potencial; Caso do ASV (adaptado de Bard e Faulkner, 1980) t_{ac} , t_{eq} , t_{red} representa o tempo de acumulação, de equilíbrio e de redissolução, respectivamente. I_{cat} , I_{an} , I_p representa a intensidade da corrente catódica, da corrente anódica e do pico, respectivamente. E_{ac} e E_p representa o potencial de acumulação e o potencial do pico, respectivamente.	127
Figura III.1.2: Efeito do potencial de acumulação (Wang, 1985).	129
Figura III.1.3: Parâmetros usados na caracterização de um pico obtido por voltametria de redissolução.	133
Figura III.1.4: Representação do sinal aplicado em voltametria de impulsos diferenciais.	134
Figura III.1.5: Representação do sinal aplicado em voltametria de onda quadrada. ΔE_{sw} : amplitude da onda quadrada; τ : período da onda quadrada; a_s : amplitude do degrau; I_d e I_{inv} : pontos de amostragem da corrente directa e inversa, respectivamente.	135
Figura III.1.6: Voltamograma de onda quadrada típico onde se mostra a corrente directa I_d , inversa I_{inv} e a corrente total, $\Delta I = I_d - I_{inv}$	136
Figura III.2.1: Determinação da intensidade dos picos nos voltamogramas obtidos por AdCSV e ASV.	159
Figura III.3.1: Efeito da concentração de oxina sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo numa solução $1,00 \times 10^{-4}$ M em HEPES e $1,00 \times 10^{-9}$ M em Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ . Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.	167
Figura III.3.2: Voltamogramas obtidos por AdCSV (DP) para uma solução $1,00 \times 10^{-5}$ M em oxina, $1,00 \times 10^{-4}$ M em HEPES e $16,7 \times 10^{-9}$ M em Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ com $E_{ac} = -0,15$ V (*--*--*--*) ou $-1,1$ V (—); $t_{ac} = 60$ s; $E_i = -0,15$ V.	170
Figura III.3.3: Efeito do tempo de acumulação sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por AdCSV (DP) numa solução de água ultrapura com oxina ($1,00 \times 10^{-5}$ M), HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M) e $[Cu^{2+}] = [Cd^{2+}] = [Pb^{2+}] = 5,58 \times 10^{-9}$ M.	171

Figura III.3.4: Comparação da intensidade dos picos obtidos por AdCSV com DP ou SW no caso do cobre, cádmio e chumbo em água ultrapura (média de três réplicas e o desvio padrão respectivo).....	173
Figura III.3.5: Voltamogramas obtidos por AdCSV usando a técnica de redissolução de onda quadrada ou diferencial por impulsos para uma solução $19,5 \times 10^{-9}$ M de Cobre e $13,0 \times 10^{-9}$ M de cádmio e chumbo.	174
Figura III.3.6: Comparação da intensidade dos picos obtidos por AdCSV com DP ou SW no caso do cobre, cádmio e chumbo em água salgada. Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.	174
Figura III.3.7: Voltamogramas de uma solução $9,88 \times 10^{-9}$ M em cádmio e chumbo obtidos por AdCSV (DP) com duas velocidades de varrimento: 20 mV/s (*-**) e 10 mV/s (—).....	176
Figura III.3.8: Voltamogramas DP na análise por AdCSV de soluções de Cu(II), Cd(II) e Pb(II) em água ultrapura. Representaram-se alguns voltamogramas usados na construção duma curva de calibração. Condições experimentais: $E_{ac} = -1,1$ V; $t_{ac} = 120$ s; $E_i = -0,15$ V; $E_f = -0,85$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento = 0,02 V/s.....	178
Figura III.3.9: Voltamogramas de uma solução sintética de água salgada com $0,991 \times 10^{-6}$ M em Cu^{2+} , $0,996 \times 10^{-6}$ M em Cd^{2+} e $1,00 \times 10^{-6}$ μ M em Pb^{2+} , obtidos por DPASV e por SWASV	182
Figura III.3.10: Efeito do tempo de acumulação sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por SWASV numa solução sintética de água salgada com $[Cu^{2+}] = 0,991 \times 10^{-6}$ M , $[Cd^{2+}] = 0,996 \times 10^{-6}$ M e $[Pb^{2+}] = 1,00 \times 10^{-6}$ M; $E_{ac} = E_i = -0,9$ V, $f = 8$ Hz, $a_s = 0,025$ V, $\Delta E_{SW} = 0,005$ V.	183
Figura III.3.11: Efeito do tempo de acumulação sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por SWASV numa solução de água salgada com $[Cu^{2+}] = 5,00 \times 10^{-9}$ M , $[Cd^{2+}] = 2,00 \times 10^{-9}$ M e $[Pb^{2+}] = 2,00 \times 10^{-9}$ M; $E_{ac} = E_i = -0,9$ V, $f = 8$ Hz, $a_s = 0,025$ V, $\Delta E_{SW} = 0,005$ V.	184
Figura III.3.12: Voltamograma de uma solução sintética de água salgada à $5,00 \times 10^{-9}$ M Cu^{2+} e $2,00 \times 10^{-9}$ M Cd^{2+} e Pb^{2+} obtido por SWASV com um tempo de acumulação de 2 minutos. $E_{ac} = E_i = -0,9$ V, $f = 8$ Hz, $a_s = 0,025$ V, $\Delta E_{SW} = 0,005$ V.....	185
Figura III.3.13: Voltamogramas de uma solução a $3,00 \times 10^{-9}$ M em Cu^{2+} , Cd^{2+} e em Pb^{2+} obtidos por SWASV e por AdCSV (DP). Tempo de acumulação de 120 segundos (outras condições experimentais cf. secção III.3.4).	189
Figura III.4.1: Variação do pH de uma mistura resina/amostra; A: $pH_{inicial} = 7,4$; B: $pH_{inicial} = 6,8$ (3 réplicas). Tempo de contacto de 24 horas.	199

Figura III.6.1: Isotérmica de adsorção do cobre pela resina Dowex 50W-X8 na forma $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ numa solução sintética de água salgada a pH 7,0.	235
Figura V.1.1: Voltamogramas de uma solução de água ultrapura e de uma solução de água desionizada na presença e na ausência de matéria orgânica obtidas por DPASV com as seguintes condições experimentais: $E_{ac} = E_i = -1 \text{ V}$; $t_{ac} = 600 \text{ s}$; $E_f = 0,1 \text{ V}$; $t_{eq} = 20 \text{ s}$; velocidade de varrimento: $0,01 \text{ V/s}$	259
Figura V.4.1: Variação da intensidade do pico do cobre com o tempo de irradiação (Média de três replicas e desvio padrão respectivo.....	263
Figura V.5.1: Mapa de localização da zona de amostragem dos sedimentos estudados.....	265

Glossário de abreviaturas e símbolos

Relativamente às abreviaturas e com o intuito de simplificar a leitura deste texto, mantiveram-se as notações em língua inglesa.

Na selecção dos símbolos tentou-se, de um modo geral, seguir as recomendações da IUPAC (International Union for Pure and Applied Chemistry). Em algumas aplicações utilizam-se sub-múltiplos das unidades recomendadas: por exemplo, *nA* em vez de *A* ou *mL* em vez de *L*.

Abreviaturas

AdCSV	Voltametria de Redissolução Catódica com Acumulação Adsorptiva (A dsorptive C athodic S tripping V oltammetry)
AdSV	Voltametria de Redissolução com Acumulação Adsorptiva (A dsorptive S tripping V oltammetry)
ATMP	Ácido aminotrimetileno fosfónico (A mino- T rimethylene P hosphonic Acid)
ASV	Voltametria de Redissolução Anódica (A nodic S tripping V oltammetry)
CLEM	Método de Troca de Ligando Competitivo (C ompetitive L igand E xchange M ethod)
DMG	D imetiloglioxina
DP	Diferencial por Impulsos (D ifferential P ulse)
DPASV	Voltametria de Redissolução Anódica Diferencial por impulso (D ifferential P ulse A SV)
DOC:	Carbono Orgânico Dissolvido (D issolved O rganic C arbon)
DTPA	Ácido dietilenotriaminopentacético (D iethylene T riamine P entaacetic Acid)
EDTA:	Ácido etilenodiaminatetracético (E thylene D iamine T etraacetic Acid)
F-AAS:	Espectrofotometria de Absorção Atómica com Atomização por Chama (F lame- A tomistic A bsorption S pectrometry)
GF-AAS:	Espectrofotometria de Absorção Atómica com Atomização por Câmara de Grafite (G raphite F urnace- A tomistic A bsorption S pectrometry)
HEPES	Ácido- <i>N</i> -2-hidroxiétilpiperazina- <i>N'</i> -2-etanosulfónico
HMDE:	Eléctrodo de Gota de Mercúrio Suspensa (H anging M ercury D rop E lectrode)
ICP-AES	Espectrofotometria de Emissão Atómica de Plasma Induzido de Árgon (I nductively C oupled P lasma A tomistic E mission S pectrometry)
ICP-MS:	Espectrometria de Massa de Plasma Induzido de Árgon (I nductively C oupled P lasma M ass S pectrometry)

l.d.d:	limite de detecção
NTA:	Ácido nitrilotriacético (N itril T riacetic A cid)
SPE:	Extracção em Fase Sólida (S olid P hase E xtraction)
SCE:	Eléctrodo de Calomelanos Saturado (S aturated C alomel E lectrode)
SWASV:	Voltametria de Redissolução Anódica de Onda Quadrada (S quare W ave ASV)
SW:	Onda Quadrada (S quare W ave)
TMFE:	Eléctrodo de filme fino de mercúrio (T hin M ercury F ilm E lectrode)

Símbolos

a_s	Amplitude do degrau em onda quadrada
C_p	Capacidade de troca da resina
f	Frequência da onda quadrada
E	Potencial, V
E_{ac}	Potencial de acumulação
E_i	Potencial inicial de varrimento
E_f	Potencial final de varrimento
E_X	Potencial de redução ou de oxidação da espécie X
ΔE_{SW}	Incremento de potencial do degrau na onda quadrada
ΔE	Intervalo de potencial
I	Intensidade de corrente eléctrica, A
I_{cap}	Intensidade da corrente capacitiva
I_c	Intensidade da corrente cinética
I_d	Intensidade da corrente de difusão
I_f	Intensidade da corrente faradáica
I_p	Intensidade da corrente do pico
K_C	Coeficiente de selectividade das resinas
K_D	Coeficiente de distribuição de um metal entre a resina e a solução
K_D'	Coeficiente de distribuição condicional de um metal entre a resina e a solução
m/V	Razão massa de sedimento/volume de solução
m_r/V_s	Razão massa de resina/volume de solução
N	Numero de dados de um conjunto
r	Coeficiente de correlação ou o raio de uma partícula esférica

R	Percentagem de recuperação
t	Tempo, s
t_{ac}	Tempo de acumulação
t_{eq}	Tempo de equilibração
τ	Período da onda quadrada
y	Desvio padrão do valor y

Objectivos da tese

Os metais presentes em quantidades vestigiais no ambiente são, dos poluentes associados à industrialização, uns dos mais preocupantes a nível ambiental. Efectivamente, os metais vestigiais encontram-se em todos os compartimentos ambientais tais como o ar, as águas, os sedimentos e os solos. O seu carácter tóxico torna-se insidioso pela sua acumulação nos organismos e pela sua bioacumulação ao longo das cadeias alimentares. Por esta razão, a presença de metais, mesmo em quantidades vestigiais, representa um risco não desprezável. Por outro lado, certos metais, como o cobre ou o zinco, só se tornam tóxicos a partir de uma certa concentração, enquanto que outros, como o cádmio ou o chumbo, são considerados elementos tóxicos independentemente da sua concentração. Os metais vestigiais são, ainda, poluentes persistentes que nunca são eliminados, mas apenas transferidos dum compartimento ambiental para outro, sendo a água o seu principal vector de transporte nos ciclos biogeoquímicos.

A concentração dos metais vestigiais nas águas depende bastante do meio considerado (oceanos, rios, lagos, estuários) e das suas propriedades físico-químicas. Actualmente, é unanimemente reconhecido que os riscos ligados à presença de metais depende mais da sua capacidade de migrar entre compartimentos ambientais do que da sua concentração total. Consequentemente, tem sido dada uma grande importância à fracção de metal considerada biodisponível, estimada através da fracção de metal lábil determinada pelos métodos de análise. Contudo, a fracção de metal lábil depende da técnica analítica e das condições experimentais utilizadas sendo portanto uma fracção operacionalmente definida.

Nos sistemas aquáticos naturais, a maior parte dos metais presentes em solução acabam por ser transferidos para os sedimentos. Logo, os sedimentos podem ser considerados como uns filtros naturais que regulam a presença de metais em solução. Muitas vezes considerados como simples depósitos de poluentes, os sedimentos podem, contudo, tornar-se numa fonte de poluição se as condições do meio forem alteradas. Efectivamente, os metais presentes nos sedimentos poderão ser remobilizados e passar novamente para as águas. Com o objectivo de estimar a remobilização de metais, vários métodos de fraccionamento de metais em sedimentos foram, e continuam a ser, desenvolvidos.

O objectivo deste trabalho é desenvolver, otimizar e comparar métodos de fraccionamento de metais vestigiais em águas e sedimentos estuarinos.

Este trabalho é composto por duas partes:

A primeira parte foi dedicada ao estudo do fraccionamento de metais em sedimentos. O fraccionamento operacional é a via mais utilizada neste tipo de estudo, nomeadamente o protocolo de extracções sequenciais de *Tessier (1979)*. Contudo esta abordagem apresenta certas limitações e, por essas razões, preferiu-se, neste trabalho, seguir uma abordagem cinética da remobilização de metais no sedimento. Um primeiro objectivo consistiu em otimizar as condições experimentais e comparar dois protocolos utilizados em estudos da cinética de extracção de metais no sedimento. Propusemo-nos, depois, determinar qual o modelo cinético que melhor descreve a extracção pelo EDTA de metais vestigiais nos sedimentos estudados. O método de fraccionamento otimizado foi finalmente utilizado para estudar a influência da composição do sedimento sobre o fraccionamento dos metais estudados determinado com base na cinética de extracção pelo EDTA.

Na segunda parte deste trabalho foram otimizados e comparados métodos de fraccionamento de metais em águas de forma a avaliar a fracção lábil de metal obtida com cada método. Os métodos considerados foram a voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva, a voltametria de redissolução anódica e a extracção em fase sólida (SPE) com duas resinas de troca catiónica. Por outro lado, no caso da SPE, um dos objectivos foi realçar o carácter operacional da fracção lábil de metal determinada com este método. Propôs-se, ainda, estudar com a SPE, a labilidade dos complexos metálicos com húmicos.

TESSIER A., CAMPBELL P.G.C., BISSON M.T., **1979**, Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51, 844-851.

I. Introdução

I.1. Os metais vestigiais no meio aquático natural

Os metais presentes em concentrações vestigiais, designados neste trabalho por *metais vestigiais*, são elementos fortemente dispersos na crosta terrestre. No entanto, as principais fontes responsáveis pela presença destes elementos no ambiente são de origem antropogénica, como por exemplo os efluentes derivados das actividades urbana, industrial e agrícola. Os metais vestigiais são, dos poluentes associados à industrialização, uns dos mais preocupantes a nível ambiental visto que não são biodegradáveis, são facilmente acumulados e são tóxicos mesmo quando presentes em níveis de concentração baixos (*Bordas, 1998*).

Entre os vários metais vestigiais existentes, interessamo-nos por três dos metais mais estudados - o cobre, o cádmio e o chumbo – por serem bastante utilizados tanto na indústria como na agricultura e devido ao seu comportamento químico e potencialidades tóxicas.

- **O cobre**

Este elemento é pouco abundante na crosta terrestre (7×10^{-3} % da litosfera) onde existe sob a forma de óxido Cu_2O , carbonato $Cu_2CO_3(OH)_2$, sulfureto Cu_2S e, essencialmente, sob a forma de $CuFeS_2$ (*Bordas, 1998*). O cobre é muito usado tanto na indústria, devido às suas propriedades de condutividade eléctrica e térmica, como na agricultura, pelas propriedades insecticidas e anti-sépticas dos seus sais. Por outro lado, o cobre faz parte dos oligo-elementos necessários ao bom funcionamento do metabolismo humano. Desta forma só pode ser considerado tóxico quando a sua concentração ultrapassa o limite máximo de assimilação pelo organismo (*O'Neill, 1993*). Assim a dose diária de cobre recomendada é de 2 mg no caso de um adulto mas em quantidades superiores a 15 mg, o cobre torna-se tóxico para o homem (*Burch et al., 1975; World Health Organization, 1984*).

- **O chumbo**

O chumbo representa 2×10^{-4} % da litosfera e encontra-se principalmente sob a forma de sulfureto PbS e de carbonato $PbCO_3$ (*Bordas, 1998*). O chumbo é muito usado na indústria metalúrgica, mas a sua maior utilização é no processo de fabrico dos acumuladores e baterias. Não sendo um elemento essencial à vida dos organismos, o chumbo apenas apresenta efeitos

tóxicos; é, nomeadamente, responsável pelo saturnismo e pode provocar deficiências intelectuais (O'Neill, 1993).

- **O cádmio**

O cádmio é um elemento muito disperso em toda a litosfera mas em quantidades muito baixas ($2 \times 10^{-5} \%$); encontra-se principalmente associado a outros metais na forma de óxidos e de sulfuretos (Bordas, 1998). As principais fontes de poluição pelo cádmio são: uma poluição indirecta ligada às actividades mineiras e metalúrgicas, e uma poluição directa devida à utilização do cádmio pelas suas propriedades físicas, químicas e electroquímicas, como por exemplo em baterias. Como no caso do chumbo, o cádmio apresenta apenas efeitos tóxicos e pode, em particular, ao acumular-se nos rins, provocar graves disfunções (O'Neill, 1993).

O fluxo natural e antropogénico de metais vestigiais termina, na maior parte dos casos, nos efluentes líquidos, contaminando, de seguida, as águas superficiais e subterrâneas. Finalmente, são transferidos para as fases sólidas, nomeadamente os sedimentos, nas quais se irão acumular. Os metais vestigiais apresentam, portanto, concentrações nas águas naturais, geralmente, inferiores as concentrações encontradas nos sedimentos (Stumm e Morgan, 1995). A Tabela I.1 apresenta valores da concentração de cobre, cádmio e chumbo em vários locais. Estes valores são muito variáveis mediante as condições hidrológicas e geográficas, o grau de industrialização e de actividade agrícola.

Tabela I.1: Concentração de Cd, Cu e Pb em vários compartimentos ambientais (Ademe, 1995; Stumm e Morgan, 1995) - M. S.: Material Seco.

	Cu	Pb	Cd
Ribeiras ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,5 – 50	0,5 – 4,1	0,1 – 10000
Lagos ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	5 – 20	0,05 – 1	0,04 – 0,1
Lençóis de água ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	20 – 100	12 – 200	3 – 20
Oceano Pacífico ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,5 – 5	0,005 – 0,08	0,01 – 1
Efluentes urbanos ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,1 – 36500	51 – 630	3 – 2140
Lamas (mg.kg^{-1} de M. S.)	180 – 8100	1 – 11600	5 – 70
Solos (mg.kg^{-1} de M. S.)	13 – 30	2 – 44	0,08 – 0,53
Sedimentos (mg.kg^{-1} de M. S.)	14 – 109	7 – 140	0,02 – 0,065

I.2. Toxicidade e especiação dos metais vestigiais

A toxicidade pode ser definida como o conjunto complexo de respostas bioquímicas e fisiológicas de um organismo vivo que ocorrem quando este é exposto a um efeito adverso do meio no qual ele se encontra (Luoma, 1995). A toxicidade dos metais vestigiais tem sido muito discutida ao longo dos últimos anos (Luoma, 1995). Por um lado, estudos bioquímicos mostraram que certas espécies aquáticas possuem sistemas de detoxificação dos metais que as tornam invulneráveis (Luoma, 1995; Bascom, 1982). No entanto, apesar de certas espécies poderem tolerar concentrações muito elevadas de metais, a detoxificação torna-se, em muitos casos, ineficaz perante os níveis de concentração muitas vezes encontrados no ambiente (Aoki et al., 1989, Roesijadi e Klerks, 1989). Por outro lado, os danos causados a médio e longo prazo pela contaminação com metais são hoje bem conhecidos e, em certos casos, bem visíveis, levando à diminuição da fauna e da flora nas zonas mais contaminadas.

Os métodos usados para avaliar o impacto de tal contaminação envolvem testes biológicos ou análises químicas. Os testes biológicos consistem em observar a reacção de um determinado organismo (animal ou vegetal) quando este é posto em contacto com um elemento químico. Estes testes podem ser utilizados com três objectivos diferentes (Luoma, 1995):

- i) determinar a concentração a partir da qual um elemento químico é tóxico;
- ii) determinar a toxicidade de uma água natural ou de um sedimento;
- iii) compreender os processos que determinam a toxicidade.

Sunda (1990) demonstrou a utilidade e a eficiência dos métodos biológicos aliados a novas técnicas geoquímicas de quantificação dos metais. No entanto, em muitos casos, os resultados obtidos em testes biológicos não podem ser generalizados nem usados para estudos de modelização. Por sua vez, as análises químicas permitem realizar uma avaliação quantitativa e qualitativa da contaminação por metais das águas e sedimentos em vários ecossistemas sem, no entanto, realçar os efeitos adversos dos metais sobre o ecossistema (Luoma, 1995).

Para poder ter qualquer efeito sobre o ecossistema, um metal vestigial deve estar numa *forma biologicamente disponível*, entendida como o estado em que este elemento se deve encontrar para poder ser adsorvido por organismos vivos (Luoma, 1995). Actualmente, é unanimemente reconhecido que os efeitos dos metais vestigiais dependem não só da sua concentração total, mas também da sua *especiação* (Luoma, 1995). O termo *especiação* foi definido por

Florence (1982) como a determinação das várias formas físico-químicas individuais de um elemento. Segundo *Florence (1982)*, os estudos de especiação são necessários para a determinação da toxicidade de um metal, a qual depende, em grande parte, da espécie físico-química sob a qual o metal se apresenta. Vários estudos mostraram a grande influência da especiação dos metais vestigiais na sua fixação pelos microrganismos (disponibilidade biológica) e na sua toxicidade (*Campbell e Stokes, 1985; Cross e Sunda, 1985; Huntsman e Sunda, 1980; Morel e Hudson, 1985; Sunda, 1990*).

Os estudos de especiação de metais vestigiais têm como principais objectivos a determinação e compreensão dos seus ciclos biológico e geoquímico. O *ciclo biológico* refere-se à interacção directa com os organismos, nomeadamente a bioacumulação, bioconcentração, biodisponibilidade e toxicidade. Por outro lado, o *ciclo geoquímico* refere-se à mobilidade dos metais vestigiais nos vários compartimentos ambientais.

O estudo da especiação de um metal é um processo muito mais complexo do que a mera determinação das concentrações totais dos vários metais de uma amostra. Esta complexidade deve-se a vários factores:

- i) a dificuldade em isolar os compostos de interesse em matrizes complexas;
- ii) a maior parte das técnicas de especiação conhecidas perturbam o equilíbrio existente entre as várias espécies químicas presentes na amostra;
- iii) no caso de espécies presentes em níveis muito baixos, poucas técnicas analíticas tem o grau de sensibilidade necessário;
- iv) a falta de materiais de referência apropriados para os vários casos em estudo.

As dificuldades encontradas nos estudos de especiação variam também com o tipo de matriz analisada. A abordagem não será a mesma no caso de uma matriz sólida (sedimento ou solo) ou no caso de uma matriz líquida (água). Entre as várias técnicas de especiação de metais vestigiais existentes, destacam-se, no caso de uma matriz líquida, os métodos electroquímicos e espectroscópicos assim como os métodos separativos que incluem a cromatografia e a extracção em fase sólida. No caso de matrizes sólidas, os métodos mais usados são os métodos de remobilização de metais, nomeadamente, as extracções sequenciais em que os metais são extraídos dos sedimentos ou dos solos usando um ou vários agentes de extracção (*Tack e Verloo, 1995*).

I.3. Especiação química ou fraccionamento?

Ao longo dos últimos anos, o termo especiação tem sido usado com vários significados e, em certos casos, de forma desapropriada (*Bernhard et al., 1986*). A especiação química, no caso dos sedimentos e dos solos, foi definida como (*Ure, 1993*):

- i) o processo de identificação e quantificação das várias espécies, formas ou fases presentes numa amostra;
- ii) ou a descrição qualitativa e quantitativa das espécies, formas ou fases presentes numa amostra.

Contudo, têm sido usadas outras definições (*Quevauviller, 1998 e 1998a*). Assim, de modo a facilitar a divulgação e compreensão dos trabalhos, existe a necessidade de utilizar termos bem definidos e uniformizados. Com base nas várias definições utilizadas ao longo dos últimos anos, foram propostas pela IUPAC (International Union for Pure and Applied Chemistry) as definições que se seguem (*Templeton et al., 2000*).

- i) *Espécies químicas de um elemento*: forma específica de um elemento definida pela sua composição isotópica, pelo seu estado electrónico, pelo seu estado de oxidação e/ou pela estrutura molecular ou estrutura do complexo formado.
- ii) *Análise de especiação*: actividade analítica de identificação ou/e quantificação de uma ou mais espécies químicas de um mesmo elemento presente numa amostra.
- iii) *Especiação*: distribuição de um elemento entre várias espécies químicas num sistema.

Como já foi referido anteriormente, o impacto de um elemento sobre o ambiente não pode ser estimado tendo em conta apenas a sua concentração total. No entanto, muitas vezes é impossível determinar a concentração individual das várias espécies químicas de um mesmo elemento presente numa amostra, devido ao facto destas não serem suficientemente estáveis para permitir a sua quantificação instrumental. Assim, os estudos de especiação são bastante

complexos. *Turner (1995)* chegou a considerar a especiação química como o maior pesadelo dos químicos e outros investigadores envolvidos nesta área.

Apesar de, em muitos casos, não ser possível determinar directamente a especiação de um elemento, os métodos de análise existentes permitem realizar *estudos de fraccionamento* (*Templeton et al., 2000*). *Templeton et al. (2000)* introduziram e definiram o termo *fraccionamento* como sendo o processo de classificação de um analito, ou grupo de analitos, numa amostra com base nas suas propriedades físicas (e.g., tamanho, solubilidade) ou químicas (e.g., complexação, reactividade). Este método alternativo consiste em identificar várias *fracções de espécies de um elemento* e determinar a sua concentração em cada fracção (*Buffle et al., 1997*).

O termo fraccionamento foi, portanto, utilizado em todo o presente trabalho por ser o termo mais adequado aos estudos realizados.

I.4. Referências

- ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie), **1995**, Rapport d'étude, France, 210p.
- AOKI Y., HATAKEYAMA S., KOBAYASHI N., SUMI Y., SUZUKI T., SUZUKI K., **1989**, Comparison of cadmium-binding protein induction among mayfly larvae of heavy metal resistant (*Baetis thermicus*) and susceptible species (*B. yoshinensis* and *B.saboensis*). *Comparative Biochemical and Physiological Journal*, 93C, 345-347.
- BASCOM W., **1982**, The effects of waste-disposal on the coastal waters of Southern California. *Environmental Science and Technology*, 16, A226-A236.
- BERNHARD M., BRINCKMAN F.E, SADLER P.J., **1986**, *The importance of chemical speciation in environmental processes*, Springer Verlag, Berlin.
- BORDAS F., **1998**, Remobilisation de micro-polluants métalliques à partir de sédiments de rivière naturellement pollués en présence de complexants organiques synthétiques, Thèse, Université de Limoges.
- BUFFLE J., WIKINSON K. J., TERCIER M. L., PARTHASARATHY N., **1997**, In situ monitoring and speciation of trace metals in natural waters. *Società Chimica Italiana*, 87, 67-82.
- BURCH R.E, HAHN H.K.J., SULLIVAN J.F., **1975**, Newer aspects of the roles of zinc, manganese and copper in human nutrition. *Clinical Chemistry*, 21, 501-507.
- CAMPBELL P.G.C., STOKES P.M., **1985**, Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. *Canadian Journal of Fishing and Aquatic Sciences*, 42, 2034-249.
- CROSS F.A., SUNDA W.G., **1985**, The relationship between chemical speciation and bioavailability of trace metals to marine organisms - A review. In *Proceedings of Symposium on Utilization of Coastal Ecosystems*; K.-S. W. Chao N.L., V. Rio Grande, RS. Brasil.
- FLORENCE T.M., **1982**, The speciation of trace elements in waters. *Talanta*, 29, 345-364.
- HUNTSMAN S.A., SUNDA W.G., **1980**, The role of trace metals in regulating phytoplankton growth. In *The physiological ecology of phytoplankton*; Morris I., Blackwell Scientific, Oxford.
- LUOMA S.N., **1995**, Predictions of metal toxicity in nature from bioassays: limitations and research needs. In *Metal Speciation and bioavailability in aquatic systems*; Tessier A., Turner D.R., John Wiley & Sons, Chichester.
- MOREL F.M.M., HUDSON R.J.M., **1985**, The geobiological cycle of trace elements in aquatic systems, Redfield revisited. In *Chemical Processes in Lakes*; Stumm W., John Wiley & Sons, New York.
- O'NEILL P., **1993**, *Environmental Chemistry*. Chapman & Hall, London.
- QUEVAUVILLER P., **1998**, Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis I. Standardization. *Trends in Analytical Chemistry*, 17, 289-298.
- QUEVAUVILLER P., **1998a**, Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis II. Certified reference materials. *Trends in Analytical Chemistry*, 17, 632-642.

- ROESIJADI G., KLERKS P.L., **1989**, A kinetic analysis of Cd-binding to metallothionein and other intracellular ligands in oyster gills. *Journal of Experimental Zoologie*, 251, 1-9.
- STUMM W., MORGAN J.J., **1995**, *Aquatic Chemistry (Third Edition)*. Wiley Interscience, New York.
- SUNDA W.G., **1990**, Trace metal interactions with marine phytoplankton. *Biological Oceanography*, 6, 411-414.
- TACK F.M.G., VERLOO M.G., **1995**, Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 59, 225-238.
- TURNER D.R., **1995**, Problems in trace metal speciation modeling. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*; Tessier A., Turner D.R., John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- URE A.M., **1993**, Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the commission of the European communities. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 51, 135-151.
- TEMPLETON D.M., ARIESE F., CORNELIS R., DANIELSSON L.G. M.H., VAN LEEUWEN H.P., LOBIŃSKI R., **2000**, Guideline for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects and methodological approaches. (IUPAC Recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry*, 72, 1453-1470.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, **1984**, Guidelines for drinking-water quality., Vol. 2. Geneva.

II. Fraccionamento de Metais Vestigiais em Sedimentos Estuarinos

II.1. Introdução

II.1.1. Composição do sedimento

Num sistema aquático, os sedimentos representam a fase sólida que pode estar em suspensão ou depositada no fundo do sistema. Os sedimentos são geralmente descritos como um conjunto heterogêneo complexo composto por várias partículas que incluem (*Martin et al., 1987; Tessier, 1992*):

- i) resíduos da erosão tais como argilas e outros alumino-silicatos, oxohidróxidos de ferro e alumínio;
- ii) produtos da actividade biológica: substâncias orgânicas (organismos vivos, detritos biológicos e substâncias húmicas) ou substâncias inorgânicas (carbonatos, fosfatos e sílicatos);
- iii) produtos diagénicos incluindo oxohidróxidos de ferro e manganês nas camadas superficiais de sedimento (óxica) e sulfuretos nas camadas mais profundas (anóxicas).

Como se pode observar na Figura II.1.1, todos estes compostos estão associados entre si para formar uma matriz complexa. Por outro lado, importa referir que as partículas de sedimento não são compactas mas formadas por várias cavidades. Logo, será necessário ter em consideração a mobilidade (fluxo) inter- e intra- partícula dos metais vestigiais no seio do sedimento.

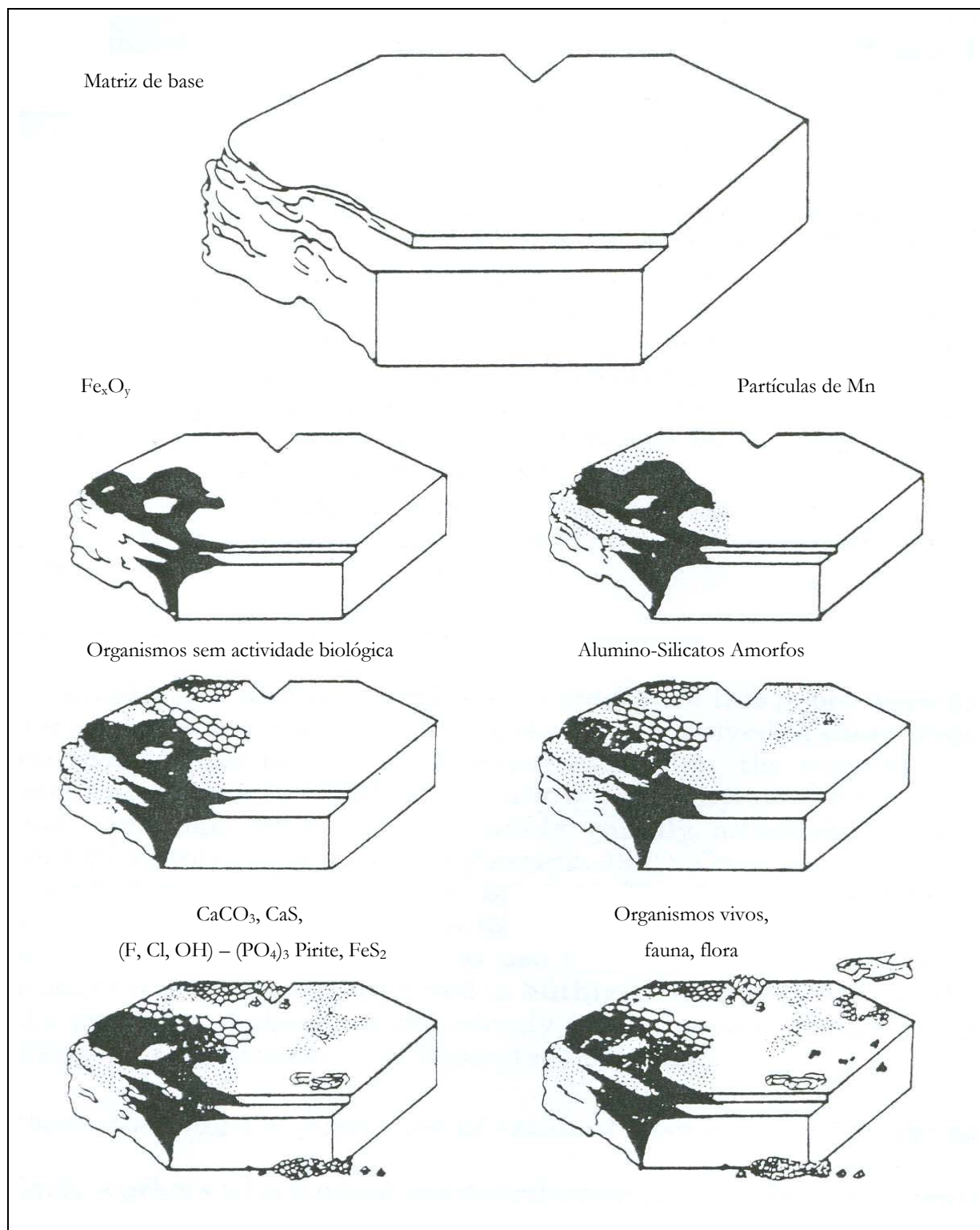


Figura II.1.1: Composição dos sedimentos (Martin et al., 1987, segundo Jenne, 1968).

II.1.2. Fixação dos metais vestigiais nos sedimentos

A fixação dos metais vestigiais no sedimento faz-se segundo vários processos físicos e químicos, tais como a adsorção, a precipitação ou coprecipitação, a complexação de superfície ou, ainda, a incorporação nos minerais cristalizados.

O tipo de ligação que se estabelece depende do sítio de ligação ao sedimento. Na Tabela II.1.1 estão resumidos os vários sítios de ligação existentes no sedimento e o tipo de ligação correspondente. Os sedimentos podem, assim, ser considerados como poli-ligandos nas reacções que ocorrem na interface água/sedimento (*Leckie, 1988*).

Os dois tipos de ligação mais relevantes são a adsorção e a precipitação. No caso dos metais vestigiais, as ligações ao sedimento são quase sempre controladas por reacções de adsorção. (*Fuller e Davis, 1987; Mouvet e Bourg, 1983*).

Tabela II.1.1: Principais sítios e tipos de ligação dos metais vestigiais nos sedimentos (*Bordas, 1998*)

Sítio de ligação ao sedimento	Tipo de ligação
Silicatos	Complexação
Carbonatos	Precipitação acima do produto de solubilidade
Sulfuretos	
Hidróxidos	
Minerais argilosos	Adsorção física
Substâncias húmicas	Adsorção física e química
Resíduos orgânicos	Complexação
Hidróxidos de Fe e Mn	Adsorção física e química
	Coprecipitação
Carbonatos de cálcio	Adsorção física e química
	Coprecipitação

II.1.3. Importância dos sedimentos na regulação da concentração dos metais vestigiais em solução

Nos sistemas aquáticos naturais, os sedimentos têm um papel muito importante no controlo dos metais em solução (ver Figura II.1.2). Como referido anteriormente, os sedimentos podem actuar como reservatórios retendo os metais vestigiais de maneira mais ou menos definitiva, mas, também, como fonte quando as condições hidro-geoquímicas do meio ambiente favorecem a passagem dos metais para fase aquosa. Assim, o sedimento e o próprio ambiente que o rodeia influenciam a mobilidade dos metais vestigiais.

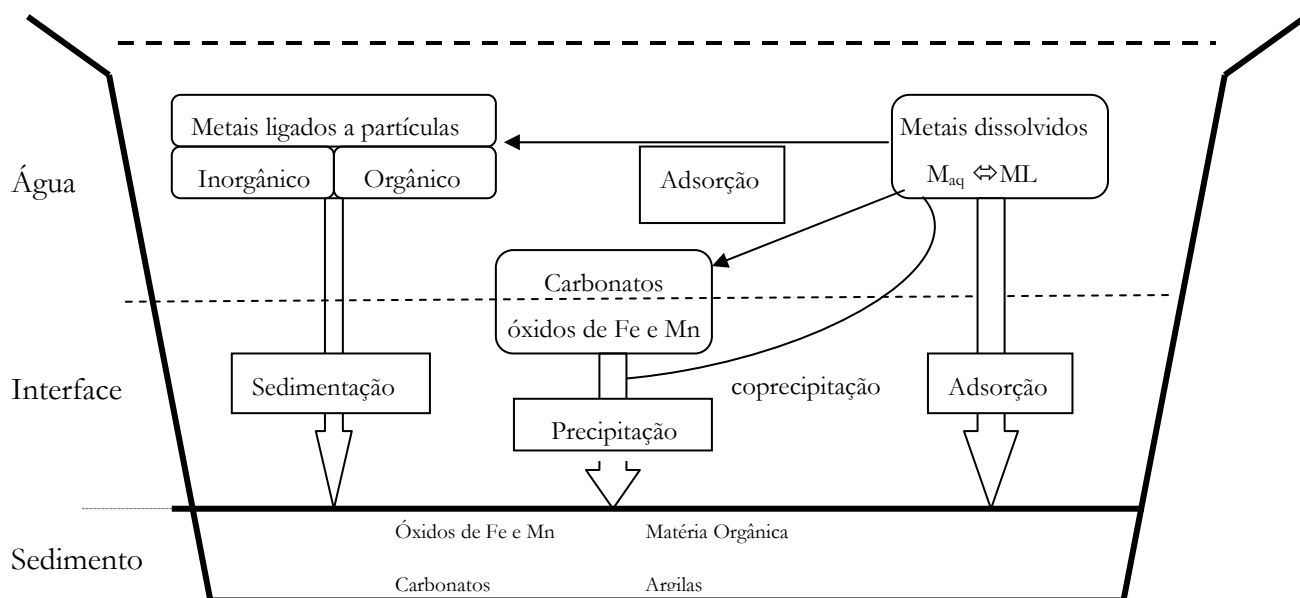


Figura II.1.2: Regulação dos metais em solução e passagem para os sedimentos (Bordas, 1998).

A mobilidade dos metais vestigiais depende de vários fenómenos como a sedimentação/ressuspensão, a sorção/desorção ou ainda a complexação/dissolução. Assim, as alterações das propriedades físico-químicas do meio poderão ter influência sobre a *remobilização*, entendida como a passagem dos metais do sedimento para a coluna de água

(Leleyter e Probst, 1999; Savvides et al., 1995). Logo, os parâmetros que mais influenciam a remobilização dos metais são a salinidade, o pH, as condições de oxidação/redução e, ainda, a presença de agentes complexantes.

i) Efeito do aumento da salinidade

A competição entre metais maioritários como o Na, o Mg ou o Ca e os metais vestigiais para a adsorção nas partículas sólidas do sedimento aumenta com a salinidade (Leleyter e Probst, 1999). Quanto maior a salinidade do meio, menor será a fixação dos metais vestigiais no sedimento. Um aumento da salinidade tem, portanto, como consequência um aumento da remobilização dos metais vestigiais. É por esta razão que em certos estuários, onde existem grandes variações de salinidade, os sedimentos podem actuar como fontes de metais vestigiais.

ii) Efeito da diminuição do pH

A acidificação do sistema aquático resultante das "chuvas ácidas" e da utilização a longo prazo da biomassa pelo homem, induz competições para os sítios de adsorção e complexação do sedimento entre o protão H^+ e outros catiões adsorvidos. Uma diminuição do pH pode, ainda, provocar a dissolução dos óxidos e carbonatos e, conseqüentemente, dos metais vestigiais. A acidificação do sistema provoca, portanto, um aumento da remobilização dos metais vestigiais (Leleyter e Probst, 1999).

iii) Efeito da variação das condições de oxidação-redução

Em condições oxidantes é favorecida a dissolução da matéria orgânica, enquanto que em condições redutoras é favorecida a dissolução dos óxidos (Leleyter e Probst, 1999). Logo, todas as variações do potencial redox, devido à exposição dos sedimentos ao ar ou ao consumo de oxigénio por parte de organismos vivos, podem provocar a remobilização de metais vestigiais associados aos óxidos ou à matéria orgânica.

iv) Efeito da presença de agentes complexantes

Os ligandos naturais ou de origem antropogénica podem ter efeitos significativos sobre os elementos adsorvidos no sedimento. Efectivamente, os ligandos L_{aq} vão formar complexos

com os catiões metálicos aquosos, M_{aq}^{n+} , diminuindo, assim, a actividade destes catiões na fase líquida (equação II.1.1). Os metais adsorvidos no sedimento, $MSed$, vão então ser removidos (equação II.1.2) para restabelecer o equilíbrio químico entre os catiões e os complexos na fase líquida (equação II.1.1):



Quanto maior for a concentração destes ligandos e/ou maior a constante de estabilidade do complexo formado, maior será a remobilização dos metais vestigiais do sedimento para a fase líquida.

II.1.4. Caracterização dos metais vestigiais no sedimento

Os métodos de extracção são geralmente utilizados para estudar a remobilização e o fluxo dos metais vestigiais, ou ainda para determinar a sua distribuição no conjunto heterogéneo e complexo de partículas que constituem o sedimento. O processo de remobilização dos metais vestigiais inclui equilíbrios de adsorção, absorção e precipitação superficial, chamada em, certos casos, sorção. Os estudos de fraccionamento dos metais vestigiais utilizam geralmente os métodos de extracção que permitem distinguir as várias fracções de espécies de um metal. Distinguem-se dois tipos de fraccionamento: o fraccionamento operacional e o fraccionamento cinético. Ambos serão discutidos nas próximas secções.

II.1.4.1. Os fraccionamentos operacionais

Os fraccionamentos operacionais são um procedimento em que o sedimento é transferido para um meio artificial bem definido, no qual são, depois, registadas as alterações ocorridas, por exemplo a deslocação de certos equilíbrios das reacções do meio. Assim, é possível estudar a evolução do equilíbrio entre o sedimento e o meio artificial, determinando, em particular, a passagem de metais do sedimento para a fase aquosa. O meio artificial é

geralmente uma solução aquosa de pH e força iónica conhecidos e na qual está presente um agente de extracção de concentração conhecida. Segundo as características da solução escolhida, observam-se vários fenómenos de troca entre o sedimento e a fase líquida. Os resultados obtidos com este procedimento são operacionalmente definidos. Efectivamente, os resultados obtidos dependem significativamente dos protocolos e dos reagentes utilizados (Quevauviller, 1998).

No conjunto dos fraccionamentos operacionais podem distinguir-se dois tipos de abordagem:

- os fraccionamentos funcionais onde é usado apenas um agente de extracção;
- os protocolos de extracções sequenciais com vários agentes de extracção.

II.1.4.1.1. Os fraccionamentos funcionais

Esta abordagem consiste em caracterizar os metais vestigiais relativamente às suas funções ou à sua mobilidade no sedimento. Este fraccionamento é realizado com um único reagente que pretende simular as condições físico-químicas da coluna de água. São geralmente usados três tipos de compostos:

- ácidos diluídos;
- ligandos orgânicos;
- soluções salinas.

O BCR (Community Bureau of Reference) propôs dois protocolos de extracção com o EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético) e o DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético) para quantificar a fracção de metal lentamente remobilizável (Quevauviller, 1998). É de salientar que o fraccionamento funcional tem sido mais utilizado no caso de estudos de fraccionamento de metais vestigiais em solos (Barona e Romero, 1997; Gray et al., 1999; Kribsnamurti e Naidu, 2000).

De modo a separar mais eficazmente a fase remobilizável (metal extraído pelo agente de extracção) da fase residual (metal não extraído), e tentar dar mais significado ao fraccionamento dos metais vestigiais, foram desenvolvidos protocolos de extracções sequenciais (Martin et al., 1987).

II.1.4.1.2. Protocolos de extracções sequenciais

Os protocolos de extracções sequenciais baseiam-se na ideia que os metais presentes no sedimento podem ser divididos em fracções específicas e que os metais de cada fracção podem ser extraídos selectivamente por agentes de extracção apropriados (*Tessier et al., 1979*). O procedimento geral usado nos protocolos de extracções sequenciais consiste em manter a amostra de sedimento estudado em contacto, sucessivamente, com vários agentes de extracção durante um tempo determinado. Na Tabela II.1.2, são apresentados os agentes de extracção geralmente usados, assim como a fracção de metal associada (*Martin et al., 1987; Rauret, 1998*).

Tabela II.1.2: Agentes de extracção e fracção de metal associada usados na maioria dos protocolos de extracções sequenciais.

Agentes de extracção	Fracção extraída
saís não tamponizados	metais trocáveis
ácidos fracos	metais associados aos carbonatos ou à fracções facilmente redutíveis
agentes redutores	metais associados aos óxidos de Fe ou Mn
agentes oxidantes	metais associados à matéria orgânica e à sulfuretos
ácidos fortes	metais associados à fracção residual

II.1.4.1.2.1. Protocolo de *Tessier et al. (1979)*

O primeiro protocolo de extracções sequenciais elaborado foi o protocolo de *Tessier et al. (1979)*. O principal critério usado para a escolha dos agentes de extracção utilizados para cada extracção foi a sua selectividade. Foi assim definido um protocolo em 5 etapas que conduzem a 5 fracções distintas. Os agentes de extracção e as fracções obtidas estão descritos na Tabela II.1.3. O protocolo de *Tessier et al. (1979)* continua a ser um dos protocolos mais utilizados para análises de metais em solos e sedimentos (*Jones e Turki, 1997; Lam e Tjia, 1997; Mc Grath, 1996*).

Tabela II.1.3: Protocolo de extracções sequenciais de *Tessier et al. (1979)*.

Etapa	Agente de extracção	Fracção extraída
1	MgCl ₂ (1M), pH = 7,0; 20°C.	Metais trocáveis
2	NaOAc (1M) + HOAc (1M), pH = 5,0; 20°C.	Metais solúveis em ácido (associados aos carbonatos)
3	NH ₂ OH.HCl (0,04 M) + HOAc (25%), 95°C.	Metais redutíveis (associados aos óxidos de Fe e Mn)
4	H ₂ O ₂ (30%) + HNO ₃ (0,02 M), pH = 2,0; 85°C NH ₄ OAc + HNO ₃ (20%)	Metais oxidáveis (associados à matéria orgânica)
5	HF / HClO ₄	Metais associados à fracção residual

II.1.4.1.2.2. Outros protocolos de extracções sequenciais

Com base no protocolo de *Tessier et al. (1979)*, foram desenvolvidos vários outros protocolos nos quais se modificou a sequência de extracção ou os reagentes utilizados para tentar isolar especificamente uma fracção. *Förstner (1985)* e *Meguellati et al. (1983)* propuseram dois protocolos baseados no protocolo de *Tessier et al. (1979)*. O principal objectivo era isolar especificamente a fase correspondente aos óxidos de ferro e de manganês e a fase correspondente aos hidróxidos. *Campanella et al. (1995)* propuseram ainda um novo protocolo que permite distinguir a fracção de metal associada à matéria orgânica, da fracção associada ao sulfureto.

Outra preocupação dos autores tem sido tentar adaptar o protocolo usado às características do sedimento e aos metais vestigiais estudados. Existe, assim, um número elevado de protocolos de extracções sequenciais diferentes, apesar de terem todos uma estrutura mais ou menos idêntica (*Ariza et al., 2000; Calace et al., 1987; Leleyter e Probst, 1999; Morillo et al., 2002; Nair et al., 1991; Polyák e Hlavay, 1999; Savvides et al., 1995*).

Com o objectivo de uniformizar a metodologia de extracção sequencial (variedade e sequência dos agentes de extracção, tempo de extracção, razão massa de sedimento/volume de solução de extracção), o BCR (Community Bureau of Reference) instituiu um protocolo simples, estruturado em três etapas, proposto por *Ure (1993)* (Tabela II.1.4). Este protocolo foi recomendado para estudos inter-laboratoriais de fracionamento de metais vestigiais em sedimentos de modo a que seja possível chegar a conclusões mais uniformes.

Tabela II.1.4: Protocolo de extracções sequenciais do BCR (Ure, 1993).

Etapa	Agente de extracção	Fracção extraída
1	ácido acético (0,1M).	metais trocáveis, solúveis em água e ácido
2	cloreto de hidroxilamónio (0,1M) a pH=2,0.	metais associados aos óxidos de Fe e Mn
3	peróxido de hidrogénio (8,8 M) + acetato de amónio (1,0 M) à pH=2,0	metais associados à matéria orgânica e aos sulfuretos

II.1.4.1.3. Problemas e artefactos dos protocolos de extracções sequenciais

Os protocolos de extracções sequenciais continuam a ser um método muito utilizado na análise dos metais vestigiais em sedimentos e solos. No entanto, existem ainda várias dúvidas e incertezas associadas a estes protocolos.

II.1.4.1.3.1. Readsorção dos metais extraídos

Um dos principais problemas dos protocolos de extracções sequenciais é a possível readsorção dos metais vestigiais extraídos (Guy *et al.*, 1978; Kheboian e Bauer, 1987; Nirel e Morel, 1990). Os fenómenos de readsorção dependem em grande parte do pH e da quantidade de locais de complexação do sedimento (Rendell e Batley, 1980). Assim, é necessário considerar tanto a variação do pH como a proporção de sedimento estudado. Por outro lado, os fenómenos de readsorção tornam-se mais importantes com tempos de extracção maiores. Efectivamente, ao longo do tempo, os ligandos orgânicos do sedimento podem também passar para a solução de extracção (dissolução dos locais de adsorção) (Rendell e Batley, 1980).

II.1.4.1.3.2. Falta de selectividade dos agentes de extracção

Uma das principais condições dos protocolos de extracções sequenciais é que os agentes de extracção usados devem extrair selectivamente uma fase sem solubilizar as outras. No entanto, segundo vários autores (Coetzee *et al.*, 1995; Martin *et al.*, 1987; Rauret, 1998; Slavek *et al.*, 1982), a maioria dos reagentes usados nesses protocolos não é suficientemente selectiva para extrair

apenas uma fracção bem definida. De uma forma geral, é difícil associar um reagente a uma fase físico-química específica (Martin *et al.*, 1987).

Por outro lado, quando se aplica um protocolo de extracções sequenciais a um sedimento, é suposto que várias fases geoquímicas estejam presentes. Assim, no protocolo de Tessier *et al.* (1979), é suposto estarem presentes 5 fracções de metais. Contudo, nem todos os sedimentos têm fases física e quimicamente distintas (Coetzee *et al.*, 1995).

II.1.4.1.3.3. Falta de independência dos resultados perante o protocolo usado

Apesar dos resultados serem necessariamente dependentes e limitados pelo método analítico usado, é o seu grau de independência perante o método usado que lhes dá sentido e utilidade (Nirel e Morel, 1990). No entanto, vários parâmetros experimentais (pH, tempo de extracção, razão m/V (massa de sedimento/volume de solução de extracção)) influenciam os resultados obtidos com os protocolos de extracções sequenciais (Kersten e Förstner, 1986; Rapin *et al.*, 1986; Rauret *et al.*, 1989; Rauret, 1998). Assim, um estudo comparativo entre, um protocolo modificado de Tessier *et al.* (1979) e o protocolo do BCR, mostrou que a distribuição dos metais nas diferentes fracções depende, em grande parte, do protocolo utilizado (López-Sánchez *et al.*, 1993).

A sequência e o número das reacções existentes em cada protocolo é também posto em causa. Em certos protocolos (Badri e Aston, 1981; Meguellati *et al.*, 1983), o processo de oxidação é realizado antes do da redução o que, segundo Martin *et al.* (1987), pode ser problemático quando é usado o péroxido de hidrogénio que provoca a dissolução dos óxidos de magnésio e limita a degradação da matéria orgânica. Por outro lado, de modo a reduzir o tempo necessário para realizar todo o protocolo, opta-se, muitas vezes, por reduzir o número de etapas. Contudo, a especificidade de cada fracção determinada com os protocolos mais curtos poderá, assim, ser posta em causa (Martin *et al.*, 1987).

São também apontados problemas mais gerais relacionados com as condições experimentais escolhidas, nomeadamente o tempo de extracção, a temperatura ou a razão massa de sedimento/volume de solução (m/V) (Coetzee *et al.*, 1995; Pfeiffer *et al.*, 1982; Rauret *et al.*, 1989), ou mesmo as características químicas de certos agentes de extracção (Rendell e Batley, 1980).

II.1.4.2. O fraccionamento cinético

Os fraccionamentos operacionais e funcionais permitem avaliar a quantidade de metal extraído por um reagente específico sem, no entanto, ter em consideração o aspecto cinético da extracção. Numa abordagem cinética do fraccionamento, o objectivo reside em avaliar os fluxos de metais extraídos por um só reagente. Para esse efeito, segue-se, ao longo do tempo, a extracção dos metais por um agente de extracção, sendo todo este processo normalmente realizado sob agitação controlada. Obtêm-se, desta forma, curvas de extracção que representam a quantidade de metal extraído em função de tempo de extracção.

Esta abordagem permite avaliar a labilidade relativa dos complexos formados entre os metais e os ligandos presentes no sedimento e pôr em evidência diferenças de labilidade entre complexos de estabilidade termodinâmica muito próxima. Do ponto de vista físico-químico, considera-se que os processos de adsorção/desorção dos iões metálicos são constituídos por várias etapas básicas (*van Leenwen, 1992*):

- i) transporte de ou para a interface;
- ii) reacções de desidratação/hidratação parcial;
- iii) reacções de associação/dissociação na superfície do sedimento.

A Figura II.1.3 reúne estas etapas principais num esquema onde, para simplificar, o ião metálico é representado por M e onde foram omitidas as cargas. Apesar de não se representarem nessa Figura, podem ocorrer outras etapas em certos processos de adsorção/desorção (reacções intermediárias) como, também, poderá acontecer que nem todas as etapas do esquema aqui representado tenham lugar nos sedimentos estudados.

A velocidade global dos processos de adsorção/desorção dos metais no sedimento depende de todas as etapas intermediárias que ligam o estado inicial do metal no sedimento ao seu estado final na solução e vice versa. Assim, no caso descrito na Figura II.1.3, a velocidade global do processo de desorção depende da cinética das reacções de dissociação e hidratação, assim como da velocidade de transferência de massa (difusão e convecção) do ião metálico hidratado da interface para a solução.

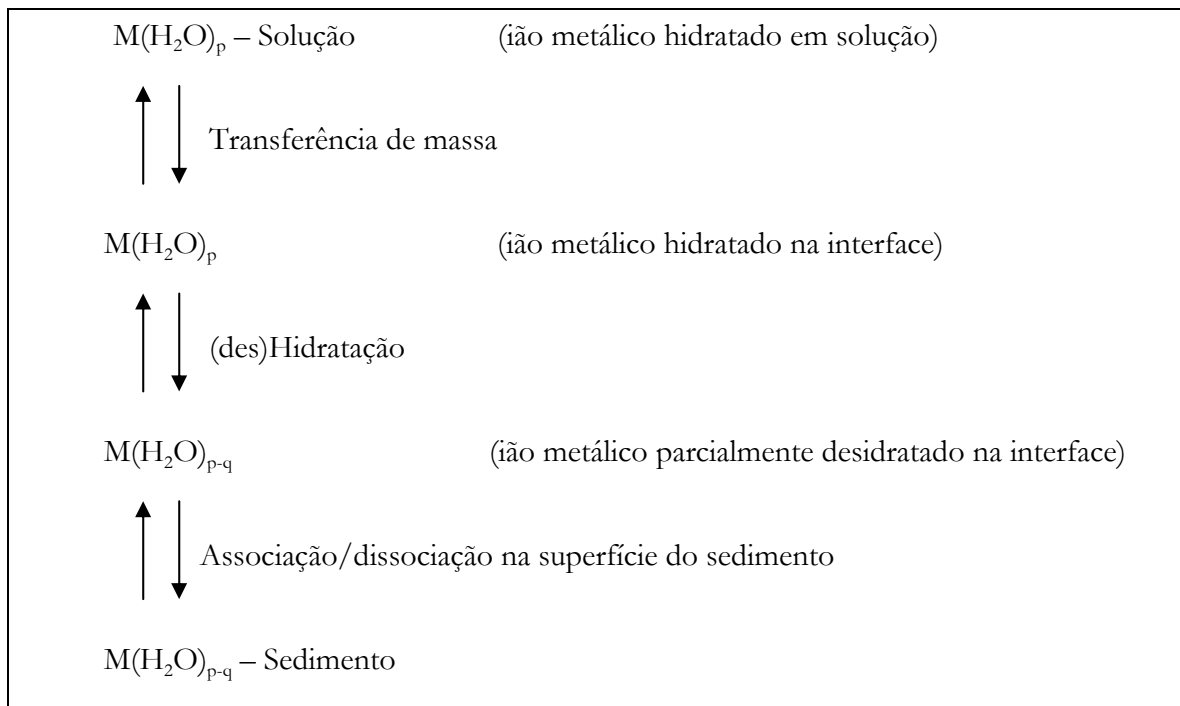


Figura II.1.3: Etapas de adsorção/desorção dos íons metálicos no sedimento (van Leeuwen, 1992).

Os aspectos teóricos dos processos de sorção assim como todas as noções matemáticas ligadas à transferência de massa e à cinética de sorção, foram revistos por *Weber et al. (1991)*. Estes autores apresentaram os vários modelos encontrados na bibliografia para descrever e analisar os processos de sorção. Primeiro, trataram separadamente o caso em que o processo de sorção é controlado pela cinética das reacções e o caso em que a transferência de massa controla o processo. Contudo, estes dois casos ideais em que todo o processo é controlado apenas por um fenómeno nem sempre correspondem à realidade. Por essa razão, *Weber et al. (1991)* apresentaram também vários exemplos de modelos que permitem considerar simultaneamente estes dois factores mas cuja utilização é bastante complicada..

Como é aconselhado por *Weber et al. (1991)*, a forma mais simples de tratar dados experimentais relativos a desorção de metais no sedimento consiste em considerar apenas um factor limitante do processo (cinética de reacção ou transferência de massa) e utilizar o modelo adequado ao caso estudado. Foram propostos vários modelos por diversos autores (*Weber et al., 1991*). No entanto, trabalhar com sistemas complexos obriga a lidar com equações matemáticas muito complexas. Por essas razões, os modelos e as equações cinéticas mais utilizadas para ajustar as curvas de extracção e analisar os dados experimentais são a “equação de Elovich” (*Chien e Clayton, 1980; Dang et al., 1994; Sharpley, 1983; Wang et al.; 2001*),

a “equação de duas constantes” (Dang *et al.*, 1994; Jopony e Young, 1987; Kuo e Mikkelsen, 1980; Lin e Chen, 1998; Yu e Klarup, 1994), o “modelo da difusão” (Chen *et al.*, 1998; Jardine e Sparks, 1984; Lin e Chen, 1998; Rao *et al.*, 1980; Sivasubramaniam e Talibudeen, 1972; Yu e klarup, 1994) e o “modelo de duas reacções de primeira ordem” (Chen *et al.*, 1998; Jopony e Young, 1987; Lin e chen, 1998; Yu e Klarup, 1994).

Estas duas equações e estes dois modelos serão apresentados nas próximas secções.

II.1.4.2.1. Modelo da difusão

O modelo da difusão assume que as reacções de complexação entre os catiões metálicos M e um agente de extracção (ligando) L são rápidas e que os factores limitantes do processo de extracção dos metais são a difusão inter e intra partículas do complexo ML formado (Crank, 1976). Este modelo baseia-se na *segunda lei de Fick*, cuja equação em coordenadas esféricas é:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (\text{II.1.3})$$

em que C é a concentração da substância que difunde, D o seu coeficiente de difusão, r o raio da partícula e t o tempo.

No caso em que metais são extraídos do sedimento por um ligando, o complexo formado difunde do interior da partícula de sedimento para a solução que a rodeia na qual posteriormente ocorrem fenómenos de convecção forçada devido à agitação da mistura sedimento/solução. Uma vez que a velocidade de convecção é muito superior à velocidade de difusão, estes fenómenos de convecção nunca serão factores limitantes da cinética de extracção dos metais.

Um dos factores importantes a considerar na utilização deste modelo é a forma das partículas de sedimento. Efectivamente, as soluções da equação que decorre da *segunda lei de Fick*, dependem da forma de partícula considerada. Logo, as equações utilizadas para descrever os fenómenos de difusão são equações complexas que dependem do modelo escolhido para as partículas. A maioria das equações encontradas na bibliografia descrevem a difusão a partir de uma esfera ou de um cilindro. No entanto, é possível encontrar várias outras equações utilizadas para descrever fenómenos de difusão.

II.1.4.2.1.1. Difusão a partir de um cilindro

A equação (II.1.4) foi proposta por *Crank (1976)* e constitui uma solução da equação que decorre da *segunda lei de Fick* para descrever a difusão de uma substância do interior para o exterior de um cilindro, para tempos curtos:

$$\frac{ML_t}{ML_\infty} = \left(\frac{4}{\pi^{1/2}} \right) \left(\frac{Dt}{a^2} \right)^{1/2} - \frac{Dt}{a^2} \quad (\text{II.1.4})$$

onde D é o coeficiente de difusão, a o raio do cilindro, t o tempo, ML_t a quantidade de complexo metal/ligando (ML) que difunde do interior para o exterior do cilindro, ao tempo t e ML_∞ a quantidade de complexo ML que difunde do interior para o exterior do cilindro no equilíbrio.

As condições fronteira impostas são:

$$\begin{cases} C = C_0 & r = a & t \geq 0 & \text{(i)} \\ C = C_i & 0 < r < a & t = 0 & \text{(ii)} \end{cases}$$

A condição (i) impõe que a concentração de complexo ML seja constante e igual a C_0 , a concentração à superfície das partículas de sedimento. No entanto, lembrando que, neste caso, as partículas são consideradas cilíndricas, nada é referido por *Crank (1976)* quanto a concentração do complexo na base do cilindro.

A equação (II.1.5) foi também proposta por *Crank (1976)* para o caso de curvas de sorção-desorção:

$$\frac{ML_t}{ML_\infty} = k \times \sqrt{t} \quad (\text{II.1.5})$$

onde k é uma constante, t o tempo, ML_t a quantidade de complexo metal/ligando (ML) que difunde do interior para o exterior do cilindro, ao tempo t e ML_∞ a quantidade de complexo (ML) que difunde do interior para o exterior do cilindro ao tempo infinito.

Contudo, esta equação só é válida nas seguintes condições (*Crank, 1976*):

- no sistema considerado, o coeficiente de difusão D aumenta quando a concentração C da substância que difunde aumenta, mas D não depende de outras variáveis;
- nas primeiras fases da difusão, quando se considera um meio semi-infinito (como por exemplo um cilindro fechado apenas numa das extremidades), a quantidade adsorvida ou desorvida é directamente proporcional a \sqrt{t} .

Em trabalhos posteriores, *Chen et al. (1998)* e *Lin e Chen (1998)* utilizaram o modelo da difusão para descrever a remobilização de metais presentes em sedimentos de rios na presença de ácido nitrilotriacético. Usaram, para esse efeito, as equações (II.1.4) e (II.1.5) sendo, nesses trabalhos, a equação (II.1.5) apresentada como uma aproximação da equação (II.1.4) válida para tempos de extracção curtos. Podem ser apontadas várias críticas à utilização destas equações por estes autores. Primeiro, as equações (II.1.4) e (II.1.5) foram usadas sem qualquer descrição do modelo subjacente e, nomeadamente, sem referir o facto de se considerar as partículas de sedimento com forma cilíndrica. Por outro lado, a equação (II.1.5) foi apresentada, por estes autores, como uma aproximação da equação (II.1.4), na qual se considera que D é constante. Contudo, uma das condições impostas pela equação (II.1.5) é que o coeficiente de difusão D aumente quando a concentração C da substância que difunde aumenta, logo, neste caso, D não é considerado constante. Assim, existe uma incompatibilidade entre as equações (II.1.4) e (II.1.5) que devem ser usadas em casos diferentes não sendo, assim possível considerar a equação (II.1.5) como uma aproximação da equação (II.1.4).

Outro problema relacionado com a utilização das equações (II.1.4) e (II.1.5) é o intervalo de tempo considerado. Segundo *Crank (1976)*, estas duas equações são válidas apenas para as primeiras etapas da difusão que correspondem a tempos de extracção curtos. Contudo, *Chen et al. (1998)* e *Lin e Chen (1998)* não testaram a validade destas equações nos intervalos de tempo que usaram.

Nesta secção considerou-se o caso em que foi assumido que as partículas de sedimento têm uma geometria cilíndrica. No entanto, *Rao et al. (1982)* mostraram que agregados não esféricos (cúbicos, cilíndricos) podem ser representados como equivalentes a agregados esféricos.

Quando necessário, o raio equivalente à esfera pode ser calculado de modo a que o volume total seja mantido constante. Certos autores preferem, assim, descrever a difusão do complexo ML usando o modelo onde se considera a difusão do interior para o exterior de uma esfera.

II.1.4.2.1.2. Difusão a partir de uma esfera

Rao et al.(1980) num estudo sobre a difusão de solutos adsorvidos em agregados esféricos propuseram um modelo baseado na segunda lei de *Fick* (ver equação II.1.3) cujas condições fronteira são:

$$\left\{ \begin{array}{lll} C_A(r,t) = C_M(t) & r = a & t \geq 0 \quad (i) \\ C_A(r,t) = C_A^0 & 0 \leq r \leq a & t = 0 \quad (ii) \\ C_M(t) = C_M^0 = 0 & r \geq a & t = 0 \quad (iii) \end{array} \right.$$

A equação resultante é:

$$\bar{C}_A(t) = C^\infty + (C_A^0 - C^\infty) \sum_{n=1}^{\infty} \left[\frac{6\beta(\beta + 1)}{9 + 9\beta + q_n^2 \beta^2} \right] \cdot \exp\left(-\frac{D q_n^2 t}{a^2}\right) \quad (II.1.6)$$

onde os valores de q_n são as soluções de:

$$\tan q_n = \left(\frac{3 q_n}{3 + \beta q_n^2} \right) \quad (II.1.7)$$

sendo $\bar{C}_A(t)$ a concentração de soluto dentro da esfera, $C_M(t)$ a concentração de soluto fora da esfera, C^∞ a concentração de soluto quando foi atingido o equilíbrio (neste caso a concentração no interior e no exterior da esfera são idênticas), a o raio da esfera, D o coeficiente de difusão e $(\beta = \theta_M / \theta_A)$ onde θ_A é o volume de soluto dentro da esfera e θ_M o volume de soluto fora da esfera.

Um dos principais problemas deste modelo é de não fornecer uma solução finita de ML_t . De facto, a expressão de $\bar{C}_A(t)$ contem uma série infinita, pelo que só será possível determinar

soluções considerando várias aproximações. Por outro lado, a expressão de $\bar{C}_A(t)$ aqui apresentada é muito complexa e difícil de manusear.

Yu e Klarup (1994) utilizaram também o modelo da difusão, mas usaram a seguinte equação:

$$\frac{ML_t}{ML_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right) \quad (\text{II.1.8})$$

onde D é o coeficiente de difusão, a o raio da esfera, t o tempo, k uma constante, ML_t a quantidade de complexo ML que difunde do interior para o exterior da esfera ao tempo t e ML_∞ a quantidade de complexo ML que difundiu no equilíbrio.

Contudo, a equação (II.1.8) foi utilizada por *Yu e Klarup (1994)* sem que estes tenham apresentado o modelo subjacente, nomeadamente no que diz respeito as condições fronteira e as aproximações utilizadas, nem tenham exposto a forma como conseguiram determinar os vários parâmetros tendo em conta que a equação (II.1.8) corresponde a uma série infinita.

No entanto, a equação (II.1.8) tinha já sido proposta por *Crank (1976)* para descrever a difusão de ou para uma esfera. As condições fronteira impostas são:

$$\begin{cases} C = 0 & r = 0 & t > 0 & \text{(i)} \\ C = C_0 & r = a & t > 0 & \text{(ii)} \\ C = C_i & 0 < r < a & t = 0 & \text{(iii)} \end{cases}$$

onde C_0 é a concentração constante à superfície da esfera e C_i é a concentração inicial dentro da esfera (assume-se uma concentração uniforme).

Como já se salientou, os valores de ML_t obtidos através da equação (II.1.8) não são valores finitos visto esta equação conter uma série infinita. Uma forma possível de resolver esta equação passará pelo desenvolvimento da série até um valor de n tal que a contribuição do termo $\frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right)$ para o valor total de ML_t / ML_∞ se torne desprezável.

Efectivamente, o aumento do número de termos na expressão tem apenas como efeito um aumento na precisão do resultado.

Assim sendo, no presente trabalho, desenvolveu-se a equação (II.1.8) até $n = 10$ tomando o valor de (D/a^2) como $9 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$. Este valor de (D/a^2) foi determinado por *Yu e Klarup (1994)* num estudo da extracção pelo EDTA do cobre em sedimentos[#].

A Tabela II.1.5 mostra os resultados obtidos para a contribuição do termo $\frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right)$ para o valor total de ML_t / ML_∞ . É possível constatar que para tempos superiores a 15 horas, a partir de $n = 5$, a contribuição do termo $\frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right)$ é já inferior a 1 %. No entanto, para tempos mais curtos, é necessário ir até $n = 8$ para se ter a mesma precisão.

Rescrevendo a equação (II.1.8) usando a aproximação acima descrita, i.e., o desenvolvimento até $n = 8$, obtêm-se uma solução finita dada por:

$$\frac{ML_t}{ML_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^8 \frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right) \quad (\text{II.1.9})$$

sendo a expressão desenvolvida dada por:

$$\frac{ML_t}{ML_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \left(\exp(-kt) + \frac{1}{4} \times \exp(-4kt) + \frac{1}{9} \times \exp(-9kt) + \dots + \frac{1}{64} \times \exp(-64kt) \right) \quad (\text{II.1.10})$$

onde $k = D\pi^2 / a^2$

A equação (II.1.10) permite determinar o valor de k por regressão não linear. Nos casos onde se pretende determinar o coeficiente de difusão da espécie, será necessário determinar ou conhecer o valor de a .

[#] **Nota:** Se se considerar um valor de a igual a 200 μm (os sedimentos são geralmente passados por um peneiro com tamanho de pores de 200 μm), o valor de D aqui considerado é igual a $2,5 \times 10^{-15} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Como os valores de D encontrados na bibliografia, no caso do cobre, variam entre $2,2 \times 10^{-16} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-14} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (*Chen e Wang, 2004; Chen e Wu, 2004*), é possível considerar que o valor utilizado como exemplo no presente trabalho é representativo dos valores determinados por outros autores com várias condições experimentais.

Tabela II.1.5: Modelo da difusão - Valores da contribuição de $\frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right)$ para o valor total de ML_t / ML_∞ determinados para vários valores de n e de t , com $D/a^2 = 9 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$.

t (h)	Contribuição de $\frac{1}{n^2} \exp \left(-Dn^2 \pi^2 t / a^2 \right)$ para valor total de ML_t / ML_∞			
	$n = 5$	$n = 6$...	$n = 8$
0	$\pm 2,73 \%$	$\pm 1,87 \%$...	$\pm 1,02 \%$
0,2	$\pm 2,70 \%$	$\pm 1,83 \%$...	$\pm 0,99 \%$
1	$\pm 2,57 \%$	$\pm 1,70 \%$...	$\pm 0,86 \%$
5	$\pm 1,99 \%$	$\pm 1,17 \%$...	$\pm 0,44 \%$
10	$\pm 1,44 \%$	$\pm 0,73 \%$...	$\pm 0,18 \%$
15	$\pm 1,04 \%$	$\pm 0,45 \%$...	$\pm 0,08 \%$
20	$\pm 0,75 \%$	$\pm 0,28 \%$...	$\pm 0,03 \%$
24	$\pm 0,57 \%$	$\pm 0,19 \%$...	$\pm 0,02 \%$

II.1.4.2.1.3. Conclusão

O modelo da difusão, devido à sua complexidade quando aplicado a um sistema natural, pode ser descrito através de várias equações. É de salientar que muitos autores limitam-se a utilizar as equações resultantes como simples ferramentas para ajustar os dados experimentais e raramente apresentam com rigor o modelo utilizado, nomeadamente no que diz respeito as condições fronteira e as aproximações utilizadas, ou ainda ao intervalo de aplicabilidade das equações usadas.

A equação do modelo da difusão proposta por *Crank (1976)* (equação II.1.8) aparece como a mais fácil de utilizar e a mais adequada ao nosso estudo. Será, portanto, a equação utilizada neste trabalho, desenvolvida de acordo com o exposto na secção anterior, ou seja, expressa pela equação finita (equação II.1.10).

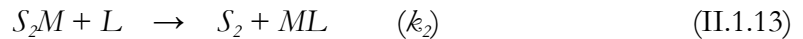
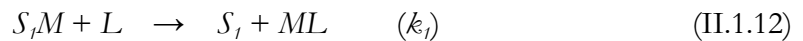
II.1.4.2.2. Modelo de duas reacções de primeira ordem (Modelo de compartimentos múltiplos)

O modelo de compartimentos múltiplos permite determinar as velocidades de dissociação de complexos [metal-ligando] ou [metal-local de fixação do sedimento], mesmo no caso em que o número e a origem dos ligandos são desconhecidos. Neste caso, assume-se que a difusão inter- e intra-partículas decorre com uma velocidade muito superior à cinética das reacções de complexação entre os cationes metálicos e o agente de extracção. Numa primeira secção será descrito o modelo geral de compartimentos múltiplos e, em segundo lugar, será apresentado o modelo de duas reacções de primeira ordem.

II.1.4.2.2.1. Modelo de compartimentos múltiplos

Este modelo é um dos mais utilizados em estudos sobre desorção de metais em sedimentos e em solos (*Chen et al., 1998; Jopony e Young, 1987; Yu e Klarup, 1994*).

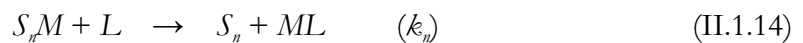
A desorção de um metal M ligado a um sistema de ligandos heterogéneos devido à acção de um agente de extracção L é representada pelas seguintes reacções:



•

•

•



onde S_i representa os diferentes sítios de fixação do metal no sedimento cada um com uma constante de dissociação específica e k_i a constante de velocidade de cada reacção.

O cálculo tanto das constantes de velocidade como da quantidade de metal atribuída a cada sítio exige que sejam feitas duas aproximações:

- i) as constantes cinéticas devem ser independentes;
- ii) o agente de extracção deve ser usado em grande excesso de forma a que a cinética destas reacções possa ser considerada de pseudo-primeira ordem.

A concentração de metal extraída em função do tempo é obtida pela resolução das seguintes equações:

$$\frac{dC_0}{dt} = k_0 (C_0^0 - C_0) \quad (\text{II.1.15})$$

$$\frac{dC_1}{dt} = k_1 (C_1^0 - C_1) \quad (\text{II.1.16})$$

$$\frac{dC_2}{dt} = k_2 (C_2^0 - C_2) \quad (\text{II.1.17})$$

•
•
•

$$\frac{dC_n}{dt} = k_n (C_n^0 - C_n) \quad (\text{II.1.18})$$

onde C_i representa a concentração em solução de metal extraída do sítio de fixação i ao tempo t e C_i^0 , a concentração em solução de metal extraído do sítio de fixação i quando foi atingido o equilíbrio.

Por integração das equações (II.1.15) a (II.1.18) e usando como condição inicial, $C_i(t=0) = 0$, obtém-se:

$$C(t) = \sum_{i=1}^n C_i^0 (1 - \exp(-k_i t)) \quad (\text{II.1.19})$$

Os valores de k_i e C_i^0 podem ser determinados por vários métodos de ajustamento do modelo aos valores experimentais, através da utilização de programas informáticos.

II.1.4.2.2. Modelo de duas reacções de primeira ordem

O modelo de duas reacções de primeira ordem é um caso particular do modelo de compartimentos múltiplos. Neste caso, considera-se apenas duas reacções concorrentes, referentes a dois sítios de fixação dos metais no sedimento. Tem-se então as seguintes equações:

$$\frac{dQ_1}{dt} = k_1 (Q_1^0 - Q_1) \quad \text{reacção rápida} \quad (\text{II.1.20})$$

$$\frac{dQ_2}{dt} = k_2 (Q_2^0 - Q_2) \quad \text{reacção lenta} \quad (\text{II.1.21})$$

expressas em termos da quantidade de metal extraído, Q (em micrograma de metal por grama de sedimento seco). Q^0 representa as quantidades extraídas no equilíbrio. A unidade de tempo considerada é a hora.

Usando as condições iniciais $Q_1(t=0) = 0$ e $Q_2(t=0) = 0$ e integrando as duas equações anteriores considerando que $Q = Q_1 + Q_2$, chega-se à seguinte equação:

$$Q = Q_1^0 (1 - \exp(-k_1 t)) + Q_2^0 (1 - \exp(-k_2 t)) \quad (\text{II.1.22})$$

Note-se que segundo esta abordagem definiu-se três fracções de metal extraído:

- i) Q_1^0 , a *fracção rapidamente extraída*, à qual corresponde a constante de velocidade k_1 ;
- ii) Q_2^0 , a *fracção lentamente extraída*, à qual corresponde a constante de velocidade k_2 ;
- iii) Q_3^0 , a *fracção de metal não extraído*. O valor de Q_3^0 é obtido por diferença entre a concentração total de metal no sedimento e a concentração de metais extraída quando o estado de equilíbrio foi atingido:

$$Q_3^0 = Q_{tot} - Q_1^0 - Q_2^0 \quad (\text{II.1.23})$$

As várias fracções obtidas, através da aplicação do modelo de duas reacções de primeira ordem às curvas de extracção dos metais, estão representadas de uma forma ilustrativa na Figura II.1.4.

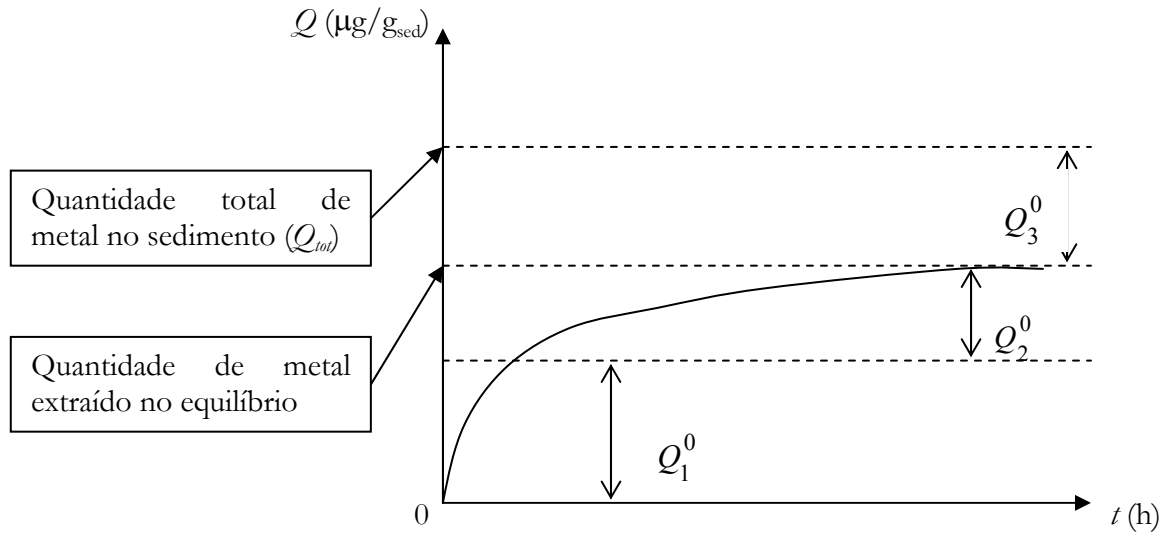


Figura II.1.4: Ilustração das frações de metal obtidas com o modelo de duas reacções de primeira ordem.

II.1.4.2.3. A equação de duas constantes

A equação de duas constantes foi proposta por Kuo e Mikkelsen (1980) num estudo cinético da desorção do Zn em solos. Os autores consideraram que a extracção de um metal M por um agente de extracção L pode ser descrita pela seguinte equação cinética de ordem múltipla:

$$-\frac{d\Gamma}{dt} = k \times \Gamma^n \quad (\text{II.1.24})$$

onde Γ ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2}$) é a concentração de M presente na superfície das partículas do sedimento, t é o tempo de reacção, k e n são respectivamente a constante cinética e a ordem da reacção.

Segundo a equação (II.1.24), na presença de L , a velocidade de extracção depende da concentração de M adsorvido na superfície do sedimento.

Os autores mostraram que a integração da equação (II.1.24) permite chegar à seguinte equação:

$$\frac{\Gamma^{n-1}}{\Gamma_0^{n-1}} = \frac{1}{(n-1)\Gamma_0^{n-1}kt + 1} \quad (\text{II.1.25})$$

onde Γ_0 e Γ são a concentração superficial de M ao tempo 0 e t , respectivamente.

Uma primeira aproximação proposta pelos autores foi assumir que $(n-1)I_0^{n-1}kt \gg 1$. Assim, a equação (II.1.25) simplifica-se da forma que se segue:

$$\log \Gamma = -\frac{1}{n-1} \log(n-1)k - \frac{1}{n-1} \log t \quad (\text{II.1.26})$$

Na determinação da velocidade de extracção de um metal, é, geralmente, preferida a medição da concentração de metal na solução de extracção. Para uma determinada concentração inicial de metal superficial constante, uma diminuição desta implica um aumento da concentração de metal em solução. Segundo *Kuo e Mikkelsen (1980)*, esta relação pode ser descrita por:

$$\Gamma = KC^{-1/m} \quad (\text{II.1.27})$$

onde C é a concentração de M na solução, K e m são constantes. Substituindo a equação (II.1.27) na equação (II.1.26), obtém-se:

$$\log C = \frac{m}{n-1} \log(n-1)k + m \log K + \frac{m}{n-1} \log t \quad (\text{II.1.28})$$

ou seja,
$$C = At^B \quad (\text{II.1.29})$$

com $A = K^m [(n-1)k]^{m/(n-1)}$ e $B = m/(n-1)$.

A grande desvantagem desta equação é o facto das duas constantes A e B não terem qualquer significado físico. Outro ponto fraco deve-se às várias aproximações utilizadas, nomeadamente $(n-1)I_0^{n-1}kt \gg 1$. É ainda de salientar que, segundo a equação (II.1.29), $C(t)$ tende para o infinito quando t tende para o infinito. Esta equação só poderá, portanto, ser usada num intervalo de tempo limitado e bastante curto.

II.1.4.2.4. A equação de Elovich

A equação de Elovich aplicada a extracção de um metal M é a seguinte :

$$\frac{dC}{dt} = a \exp(-bC) \quad (\text{II.1.30})$$

onde C é a concentração de M em solução ao tempo t , e a e b são constantes (Havlin et al., 1985).

Esta equação está baseada no modelo de Elovich no qual é considerado existir uma gama contínua e específica de sítios de reacção no sedimento (Weber et al., 1991). Segundo Stucki e Lee (1999), a forma integrada da equação (II.1.30) é:

$$C = \frac{1}{b} \ln(1 + abt) \quad (\text{II.1.31})$$

Se se assumir que $abt \gg 1$, então a equação (II.1.31) pode ser simplificada e tem-se:

$$C = \frac{1}{b} \ln(ab) + \frac{1}{b} \ln(t) \quad (\text{II.1.32})$$

A representação gráfica de C_t vs. $\ln(t)$ deverá ser uma recta de declive igual a $1/b$ e ordenada na origem igual a $1/b \ln(ab)$. Como no caso da equação de duas constantes, o significado físico das duas constantes a e b é pouco claro.

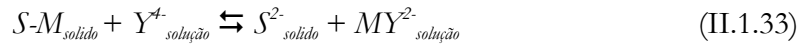
II.1.5. Capacidade complexante do EDTA

O agente de extracção escolhido no presente trabalho foi o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). O EDTA é um tetra-ácido cujo valores de pK_a são: 2,0; 2,7; 6,2; 10,3 (Ringbom, 1967). No entanto, a protonação dos seus 2 grupos amina também deve ser considerada. Todos estes grupos dadores de electrões podem estabelecer ligações de coordenação com os catiões metálicos e formar estruturas cíclicas muito estáveis chamadas "quelatos". As constantes de complexação do EDTA com alguns catiões metálicos estão descritas na Tabela II.1.6.

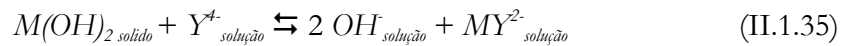
Tabela II.1.6: Logaritmo das constantes de complexação do EDTA (Y^{4-}) com os catiões metálicos (M^{n+}) mais comuns. K_{MY} corresponde a constante da reacção $M + Y \leftrightarrow MY$, K_{MHY} corresponde a constante da reacção $MY + H \leftrightarrow MHY$ e K_{MOHY} corresponde a constante da reacção $MY + OH \leftrightarrow MOHY$ (Ringbom, 1987).

	Cd^{2+}	Cu^{2+}	Pb^{2+}	Zn^{2+}	Al^{3+}	Ca^{2+}	Fe^{3+}	Mg^{2+}	Mn^{2+}	Ni^{2+}
pK_{MHY}	2,9	3,0	2,8	3,0	2,5	3,1	1,4	3,9	3,1	3,2
pK_{MY}	16,5	18,8	18,0	16,5	16,1	10,7	25,1	8,7	14,0	18,6
pK_{MOHY}	/	2,5	/	/	8,1	/	/	/	/	/

O EDTA (Y^{4-}) é um agente de extracção muito usado devido a sua capacidade a extrair catiões metálicos ligados as diferentes fases sólidas do sedimento ou do solo. A sua grande capacidade de complexação permite-lhe ser um competidor muito eficiente perante os sítios de superfície (S^2) da fase sólida do sedimento. A extracção dos catiões metálicos pelo EDTA pode ser descrita pela seguinte equação:



A complexação pelo EDTA permite, ainda, a extracção de catiões precipitados ou co-precipitados com o composto A na fase sólida do sedimento (carbonatos, óxidos de ferro, ...) segundo as seguintes reacções:



O EDTA foi utilizado em vários estudos (Bermond *et al.*, 1998; Bordas e Bourg, 1998) como agente de extracção tendo sido demonstrada a sua grande eficiência e a sua capacidade para a realização de estudos cinéticos de extracção de metais.

II.2. Detalhes experimentais usados no fraccionamento cinético dos metais em sedimentos

II.2.1. Sedimentos estudados

Os sedimentos utilizados em todo este trabalho são provenientes do Largo do Laranjo situado na Ria de Aveiro, perto da zona industrial de Estarreja. Os sedimentos foram recolhidos em vários locais (ver anexo V), em 3 períodos diferentes:

Janeiro 2000 (sedimentos *n*A)

Março 2000 (sedimentos *n*B)

Julho 2001 (sedimentos *n*C)

II.2.1.1. Amostragem e tratamento das amostras

Todo o material utilizado nas amostragens foi previamente lavado com HNO₃ (4M). Foram utilizados sacos próprios para amostragens (estéril e com teores de metais muito baixos) e uma pá de plástico (lavada com HNO₃) para transferir os sedimentos para os sacos. Recolheram-se sedimentos da camada superficial (0-15 cm) recobertos por 20-30 cm de água.

Os sedimentos foram depois colocados em tabuleiros de vidro e secos a 30-40 °C numa estufa. Uma vez seco, o sedimento foi triturado e passado pelo peneiro (200 μm) de modo a obter uma amostra homogénea.

II.2.1.2. Características químicas dos sedimentos estudados

Os sedimentos foram analisados de modo a determinar a concentração total de cobre, cádmio, chumbo e ferro. Determinou-se, ainda, o teor em carbono orgânico, matéria orgânica e carbonato de cálcio. Estas análises foram realizadas pelo *Laboratoire d'analyse du sol - INRA* Arras (França). O procedimento experimental utilizado nas várias análises foi o seguinte:

- **Concentração total de metais**

O protocolo usado foi o seguinte (norma X31-147)(AFNOR, 1996):

- i) a análise é feita com o sedimento seco ao ar e triturado;
- ii) calcinação de 250 mg de amostra a 450°C durante 4 horas;
- iii) digestão com 5 mL de ácido fluorídrico e 1,5 mL de ácido perclórico com aquecimento, durante 3 horas, e evaporação até a secura;
- iv) diluição a 2% do resíduo com HCl 10% (volume final de 50 mL).

A concentração de cádmio e chumbo foi medida por espectrofotometria de absorção atómica com atomização electrotérmica e correcção de fundo por efeito Zeeman ou arco de Deutério. A concentração de cobre foi medida por espectrofotometria de emissão atómica de plasma induzido de árgon (ICP – AES). A concentração de ferro foi medida por espectrofotometria de absorção atómica com atomização por chama (ar/acetileno) (F-AAS).

- **Teor em matéria orgânica**

O teor em carbono orgânico ou oxidável foi determinado pelo método “Anne” modificado (oxidação da matéria orgânica pelo dicromato de potássio em meio sulfúrico) (*Laboratoire d'analyse du sol – INRA* Arras-(França)).

- **Teor em carbonato**

O carbonato de cálcio total foi determinado por calcimetria (*Laboratoire d'analyse du sol – INRA* Arras (França)).

Na Tabela II.2.1 estão representadas as características químicas, acima referidas, para os vários sedimentos estudados.

Tabela II.2.1: Características químicas dos sedimentos estudados.

	Carbono orgânico (g/kg)	Matéria orgânica (g/kg)	CaCO ₃ (g/kg)	Fe (g/kg)	Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)
Sedimento 2A	46,0	79,1	5	6,49	55,9	1,36	56,7
Sedimento 3A	35,8	61,6	8	5,21	29,4	0,99	44,0
Sedimento 1B	28,3	48,7	6	7,28	43,0	1,17	52,2
Sedimento 2B	41,5	71,4	6	8,47	48,9	1,35	53,7
Sedimento 3B	37,9	65,2	4	6,40	29,8	0,99	42,7
Sedimento 4B	43,4	74,6	6	4,78	29,8	1,08	47,3
Sedimento 1C	51,9	89,3	4	3,94	176,6	9,21	218,2
Sedimento 2C	39,9	68,6	4	2,94	65,4	3,14	70,3
Sedimento 3C	21,5	37,0	4	1,61	13,6	0,64	33,7
Sedimento 4C	31,6	54,4	4	2,58	33,8	2,15	53,6

II.2.2. Lavagem do material

Todo o material em polietileno utilizado durante este trabalho foi lavado com vários banhos para prevenir qualquer tipo de contaminação tanto a nível de metais como de matéria orgânica.

O protocolo de lavagens utilizado foi o seguinte:

- i) lavagem num banho de detergente e água destilada durante uma noite,
- ii) passagem por água destilada,
- iii) lavagem num banho de ácido nítrico (4 M) durante uma noite,
- iv) passagem por água ultrapura
- v) secagem.

II.2.3. Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados durante a realização deste trabalho são todos de qualidade analítica: ácido nítrico (65 %), hidróxido de sódio, ácido clorídrico (37 %), sal dissódico de EDTA (Merck – Pro Analysis) e soluções padrão de diversos metais BDH Spectrosol (1000 ppm). Todas as soluções foram preparadas com água desionizada (resistividade: 18,2 M Ω .cm) obtida num sistema Milli-Q da Millipore.

II.2.4. Estudos de optimização da extracção pelo EDTA de metais vestigiais em sedimentos

Apresenta-se de seguida o protocolo de base utilizado em todos os estudos de optimização.

- i) Pesa-se uma determinada quantidade de sedimento num frasco de polietileno de 50 mL.
- ii) Prepara-se uma solução de EDTA com uma concentração e um pH definido. Pesa-se 40 g desta solução e junta-se ao sedimento. [#]
- iii) Mede-se o pH da solução.
- iv) Adiciona-se a solução de extracção ao sedimento no frasco.
- v) Agita-se os frascos durante 24 horas por agitação rotativa.
- vi) Centrifuga-se o extracto obtido durante um tempo definido.
- vii) Filtra-se a solução sobrenadante sobre membranas Millipore (0,45 μ m).
- viii) Mede-se o pH da solução e conserva-se sem acidificação a 4° C até serem determinadas as concentrações de metais por F-AAS.

Segundo o parâmetro experimental estudado, foi-se variando a quantidade de sedimento (estudo da razão m/V), o pH ou a concentração da solução de EDTA. Foram também realizadas experiências na ausência de EDTA em que a solução de extracção usada foi uma solução de HNO₃ a várias concentrações.

[#] Nota: Procedeu-se por pesagem para medir a quantidade de solução de EDTA. Considerou-se que a densidade da solução de EDTA 0,05 M é igual à densidade da água, ou seja 1.

II.2.5. Protocolos de extracção pelo EDTA, em função do tempo, de metais vestigiais em sedimentos

As cinéticas de extracção dos metais, pelo EDTA, no sedimento foram determinadas num período de tempo de 24 horas. As curvas de extracção apresentam geralmente uma evolução rápida nos primeiros tempos e mais lenta para os tempos mais longos, pelo qual foram escolhidos os tempos seguintes: 0,083; 0,17; 0,25; 0,33; 0,42; 0,5; 1; 3; 5; 7; 9; 11; 24 horas.

Apresentam de seguida os protocolos de extracção cinéticos comparados neste trabalho:

Protocolo experimental I

Neste protocolo, usou-se um único frasco do qual se retiram alíquotas da mistura EDTA/sedimento ao fim de determinados tempos de extracção, de acordo com o seguinte procedimento:

- i) Pesa-se 60 g de sedimento num frasco em polietileno de 500 mL.
- ii) Prepara-se uma solução de EDTA de concentração 0,05 M. Ajusta-se o pH da solução a 6,0 com NaOH (5M). Adiciona-se 400 g desta solução ao sedimento contido no frasco. O início da contagem do tempo ($t = 0$) coincide com o momento em que se mistura o EDTA com o sedimento.
- iii) Agita-se o frasco por agitação rotativa.
- iv) Segue-se a desorção dos cationes durante 24 horas, neste período, tiram-se várias alíquotas a determinados tempos.
- v) Centrifuga-se o extracto a 6000 rpm, durante 10 minutos.
- vi) Filtra-se a solução sobrenadante sobre membranas Millipore (0,45 μm).
- vii) Mede-se o pH da solução recolhida e conserva-se sem acidificação, a 4°C, até serem determinadas as concentrações de metais por FAAS.

Protocolo experimental II

Neste protocolo, a cada tempo de extracção, corresponde um frasco único.

- i) Num frasco de polietileno de 50 mL, pesa-se 6 g de sedimento.
- ii) Prepara-se uma solução de EDTA de concentração 0,05 M. Ajusta-se o pH da solução a pH=6,0 com NaOH (5M). Adiciona-se 40 g desta solução ao sedimento contido no frasco. O tempo $t=0$ da cinética é o tempo em que se mistura o EDTA com o sedimento.
- iii) Os frascos são agitados por agitação rotativa durante um determinado tempo (cada frasco é agitado durante um tempo diferente de forma a ser possível seguir a extracção ao longo do tempo).

- iv) Centrifuga-se o extracto durante 10 minutos, a 6000 rpm.
- v) Filtra-se a solução sobrenadante sobre membranas Millipore (0,45 μm). [#]
- vi) Mede-se o pH da solução recolhida e conserva-se, sem acidificação, a 4° C até serem determinadas as concentrações de metais por FAAS.

II.2.6. Determinação da concentração de metais por F-AAS

A determinação da concentração de cobre, de cádmio, de chumbo, de ferro e, em certos casos, de cálcio nas soluções de extracção foi realizado por F-AAS. O método analítico foi calibrado com 5 padrões preparados numa solução de EDTA (0,05 M), ajustando-se o pH destes padrões ao mesmo pH das amostras. O coeficiente de correlação r das rectas de calibração tinha sempre um valor igual ou superior a 0,998.

Foram sempre realizadas 5 réplicas de cada medição e usou-se o valor médio.

[#] Nota: O tempo necessário para a filtração nunca é superior a 10 % do tempo de extracção. Por outro lado, durante esse intervalo de tempo, a solução já não é agitada; pode-se então supor que a extracção é significativamente reduzida durante esse período e que o tempo necessário à filtração não aumento o erro experimental. Da mesma forma, o tempo de centrifugação não foi contabilizado no tempo de extração, um vez que nesse período, a extração é significativamente reduzida.

II.3. Optimização das condições experimentais para a realização do estudo da cinética de extracção pelo EDTA de metais vestigiais em sedimentos estuarinos

II.3.1. Introdução

Neste capítulo será apresentada a optimização das condições experimentais dos estudos cinéticos de extracção de três metais vestigiais em sedimentos (cádmio, cobre e chumbo) usando como agente de extracção o EDTA.

A abordagem cinética escolhida para este trabalho - o fraccionamento cinético - foi preferida aos tradicionais esquemas de extracção selectivas por uma razão principal. Esta última abordagem permite a realização de um fraccionamento operacional dos metais com base na origem das ligações entre estes metais e o sedimento (adsorção, ligação aos carbonatos, matéria orgânica, óxidos entre outros) sem, no entanto, trazer nenhuma informação relevante quanto à mobilidade dos metais. Por outro lado, o fraccionamento cinético tem a vantagem de poder estimar o transporte dos metais do sedimento para a coluna de água.

Um estudo de optimização do fraccionamento cinético de metais vestigiais em solos foi já realizado por *Ghestem (1997)*. No entanto, no caso dos sedimentos, não foi realizado nenhum estudo de optimização sistemático dos vários parâmetros experimentais. Assim, foram optimizadas as condições experimentais da extracção pelo EDTA do cobre, do cádmio e do

chumbo presentes em sedimentos. Além destes 3 metais, considerou-se ainda de interesse estudar a extracção do ferro e, em certos casos, a do cálcio. Estes dois metais, designados por metais maioritários devido às suas quantidades relativamente elevadas, poderão ajudar a interpretar alguns dos resultados obtidos com os metais vestigiais. Além deste estudo de optimização foram, também, comparados, em termos de eficiência, dois protocolos experimentais utilizados em estudos cinéticos de extracção (cf. II.2.5).

II.3.2. Optimização dos parâmetros experimentais da extracção

Estudou-se a influência de vários parâmetros sobre a extracção de metais pelo EDTA, nomeadamente o pH, a concentração de EDTA e, ainda, a razão massa de sedimento/volume de EDTA (m/V). É de salientar que este último parâmetro nunca tinha sido considerado nos estudos cinéticos de extracção de metais vestigiais em sedimentos (*Fangueiro et al., 2002*). Os estudos de optimização foram realizados com um tempo de extracção tal que se possa considerar que a reacção de extracção dos metais pelo EDTA atinge um estado de equilíbrio. Esta é uma condição necessária para que a influência da cinética da extracção possa ser desprezada.

II.3.2.1. Determinação do tempo de equilíbrio “prático”

No presente trabalho, considerou-se que o estado de equilíbrio foi atingido quando a quantidade de metal extraído deixa de aumentar significativamente com o aumento do tempo de extracção. Assim, o tempo necessário para que a reacção de extracção pelo EDTA de metais atinja um estado estacionário, também chamado estado de pseudo-equilíbrio, será designado por tempo de equilíbrio “prático”.

De forma a determinar o valor deste tempo de equilíbrio “prático”, procedeu-se à extracção de Cu, Cd, Pb e Fe com diversos tempos de extracção. Este estudo foi realizado com o sedimento 4B e uma solução de EDTA (0,05 M) a pH = 6,0. Seguiu-se o procedimento experimental descrito na secção II.2.4 com uma razão m/V = 0,15 kg.L⁻¹. Os tempos de extracção escolhidos variam entre 5 minutos e 25 horas.

A Figura II.3.1 apresenta a concentração por grama de sedimento de Cd, Cu, Pb e Fe, extraídos pelo EDTA, em função do tempo. Aparece que a quantidade extraída pelo EDTA de Cu, Cd e Pb aumenta rapidamente com o tempo de extracção até aproximadamente 9

horas e atinge, posteriormente, um patamar. No entanto, no caso do Fe, a quantidade extraída continua a aumentar significativamente até às 25 horas.

A Tabela II.3.1 apresenta o valor do declive $d = \frac{\Delta C_{\text{ext}}}{\Delta t}$ calculado em três intervalos de tempo

para os quatro metais (C_{ext} representa a concentração por grama de sedimento de metal extraído pelo EDTA). O aumento da concentração extraída de Cu, Cd e Pb no último intervalo de tempo (entre 11 e 25 horas de extracção) é muito baixo quando comparado com o aumento obtido nos outros dois intervalos de tempo. Efectivamente, os valores obtidos nesse intervalo de tempo são, pelo menos, dez vezes inferiores ao valores obtidos no intervalo de tempo [0,0833-1]. Pode então concluir-se que, para tempos de extracção superiores a 11 horas, tende-se para um estado estacionário em que o declive apresenta um valor muito próximo de 0 e será, assim, possível considerar que, nesse intervalo, a quantidade de metal extraído é quase independente do tempo de extracção.

É de salientar que, no caso do cádmio, atinge-se mais rapidamente o estado estacionário do que no caso dos outros dois metais vestigiais estudados. Como se poderá constatar numa fase posterior deste trabalho, o cádmio é o metal mais facilmente extraído do sedimento. A reacção entre o metal M ligado ao sedimento e o EDTA (H_2Y^{2-}) descrita pela equação (II.3.1) atinge, portanto, mais rapidamente o equilíbrio.



Tabela II.3.1: Variação da concentração de Cu, Cd, Pb e Fe extraído pelo EDTA com o tempo de extracção $\left(\frac{\Delta C_{\text{ext}}}{\Delta t} \right)$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) em 3 intervalos de tempo - Sedimento 4B com EDTA (0,05 M) a pH = 6,0 e m/V = 0,15 kg.L⁻¹.

Intervalo de tempo (h)	Cd	Pb	Cu	Fe
[0,0833 – 1]	$9,11 \times 10^{-2}$	4,22	4,11	212
[3-9]	$0,740 \times 10^{-2}$	0,603	0,633	56,9
[11-25]	$0,760 \times 10^{-3}$	0,163	$0,653 \times 10^{-1}$	20,7

No caso do ferro, o aumento da quantidade extraída é ainda significativo no intervalo de tempo [11–25] horas. Esta diferença, relativamente aos outros metais, pode ser devida à sua grande abundância nos sedimentos e, principalmente, à forma sob a qual este elemento se apresenta no sedimento.

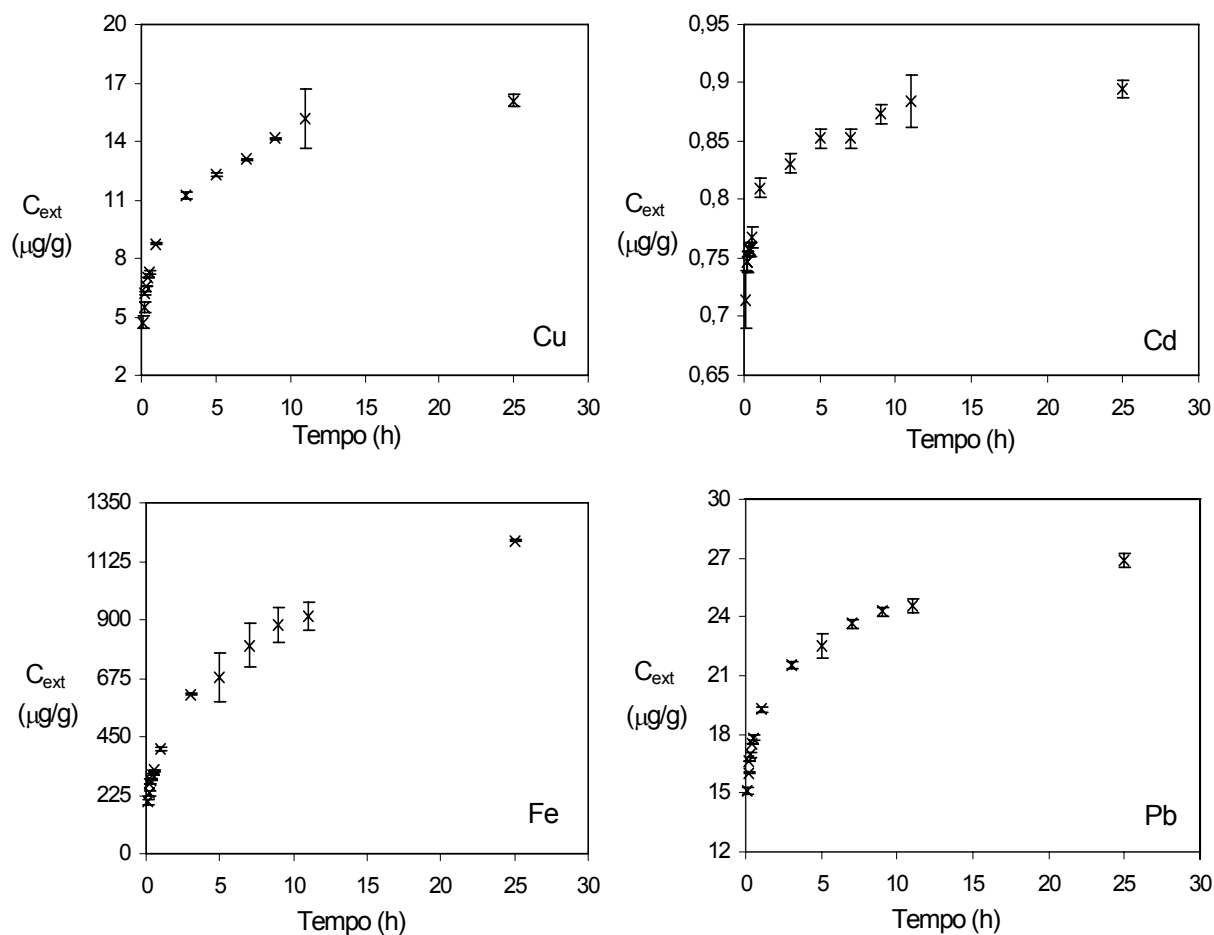


Figura II.3.1: Influência do tempo de extração sobre a concentração por grama de sedimento de Cd, Cu, Pb e Fe extraído pelo EDTA. Média e desvio padrão de duas réplicas. Sedimento 4B e EDTA (0,05 M) a pH = 6,0; $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$.

Grande parte do ferro presente nos sedimentos está sob a forma de óxidos ou hidróxidos precipitados cuja dissolução pelo EDTA é lenta e pode demorar várias semanas (Bordas e Bourg, 1998; Borggard, 1976; Borggard, 1979). No entanto, na Tabela II.3.1, se se comparar o declive obtido no intervalo de tempo [11–25] horas com o declive dos outros intervalos de tempo, é

possível concluir que o valor do declive tende para zero e consequentemente que a quantidade de ferro extraído em função do tempo tende a atingir um patamar para tempos de extracção superiores a 25 horas.

É, ainda, de salientar que o estado de equilíbrio "real" é, em certos casos, só atingido apenas após várias semanas de extracção. Contudo, muitos autores (*Bermond et al, 1998, Bufflap e Allen, 1995; Fangueiro et al., 2002*) consideram que um estado de equilíbrio "prático" é atingido após 24 horas de agitação.

Em conclusão, este estudo mostrou que um tempo de extracção de 24 horas permite que a reacção de extracção pelo EDTA dos três metais estudados (Cu, Cd e Pb) atinja um estado de equilíbrio "prático". Este tempo foi, portanto, utilizado em todos os estudos de optimização realizados em condições de equilíbrio.

II.3.2.2. Influência da razão massa de sedimento/volume de EDTA (m/V) sobre a extracção de metais vestigiais em sedimentos

Nos vários estudos encontrados na bibliografia, as condições experimentais de extracção utilizadas são geralmente muito diferentes de um estudo para outro sendo a razão massa de sólido/volume de solução de extracção (m/V) um dos parâmetros que mais varia. *Rauwet et al. (1989)*, num estudo de optimização das condições experimentais utilizadas no protocolo de extracções sequenciais de *Tessier et al. (1979)*, mostraram que, com certos reagentes, a quantidade de chumbo extraída diminui quando a razão m/V aumenta, realçando, assim, a influência deste parâmetro sobre a quantidade de metais extraídos. No entanto, a influência deste parâmetro sobre a eficiência da extracção tem sido muito pouco estudada.

Logo, estudou-se a influência da razão m/V sobre a extracção pelo EDTA de metais vestigiais em sedimentos. Procedeu-se à extracção pelo EDTA dos metais, presentes em 2 sedimentos, com várias razões m/V. Interessamo-nos pelo comportamento de três metais vestigiais, o Cu, Cd e Pb e por dois metais maioritários, o Fe e o Ca. Foram escolhidos os sedimentos 1B e 2B por terem concentrações totais em Cu, Cd e Pb bastante diferentes. Utilizou-se uma solução de EDTA (0,05M) a pH = 4,5 e variou-se a razão m/V entre 0,05 e 0,2 kg.L⁻¹.

A Figura II.3.2 mostra a influência da razão m/V sobre a quantidade de Cu, Cd e Pb extraída por grama de sedimento (duas réplicas para cada sedimento). Como é possível verificar, a concentração de metais extraídos aparenta não variar com a razão m/V. Para confirmar essa

observação, calculou-se a variação máxima, entre razões m/V, da concentração extraída de Cu, Cd e Pb; os valores obtidos estão apresentados na Tabela II.3.2. As percentagens de variação foram calculadas da seguinte forma:

$$\%_{\text{variação}} = \frac{(\text{valor máximo} - \text{valor mínimo})}{\text{média dos valores}} \times 100 \quad (\text{II.3.2})$$

Para as várias razões m/V estudadas, a variação da concentração extraída de cobre, cádmio ou chumbo é sempre inferior a 10 %. É, assim, possível concluir que a razão m/V não tem um efeito significativo sobre a concentração de Cu, Pb e Cd extraída pelo EDTA, nas condições experimentais usadas no presente trabalho (Fangueiro *et al.*, 2002).

Tabela II.3.2: Variação máxima da concentração de Cu, Pb e Cd extraída pelo EDTA com várias razões m/V.

	Sedimento 1A	Sedimento 2A
Cu	7,5 %	3,1 %
Pb	7,0 %	10,1 %
Cd	9,6 %	2,2 %

Como se pode observar na Figura II.3.2, são os valores de C_{ext} obtidos com as menores razões m/V que apresentam a maior variação entre réplicas. Nestes casos, a quantidade de sedimento extraído é pequena e, conseqüentemente, as concentrações de cátions metálicos em solução são muito baixas, sendo em certos casos muito próximas do limite de detecção da F-AAS. O erro experimental, no caso destes valores baixos de m/V, será portanto mais elevado, o que poderá explicar uma maior variação dos resultados entre réplicas.

Embora se tenha verificado que a razão m/V não afecta a extracção do Cu, Cd ou do Pb, no caso dos dois metais maioritários Fe e Ca, um aumento da razão m/V induz uma diminuição da quantidade de metal extraída por grama de sedimento (Figura II.3.3). De facto, quando a razão m/V passa de 0,05 para 0,2 kg.L⁻¹, observa-se uma diminuição de 36 % no caso do cálcio e de 17 % no caso do ferro.

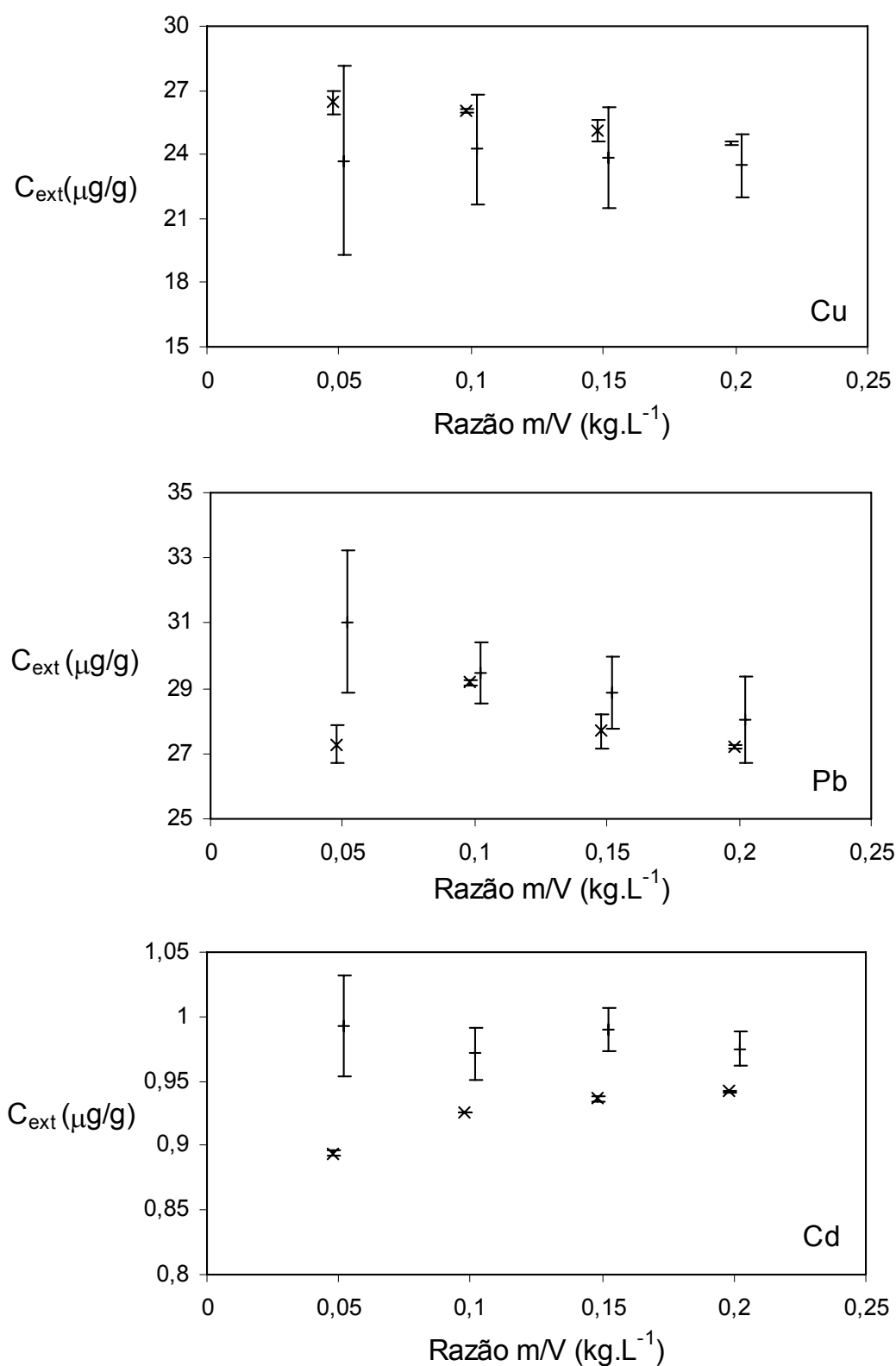


Figura II.3.2: Influência da razão m/V sobre a quantidade de Cu, Cd e Pb extraída por grama de sedimento (sedimento 1B(x) e 2B(+)); EDTA (0,05M) a pH = 4,5; média de duas réplicas e desvio padrão.

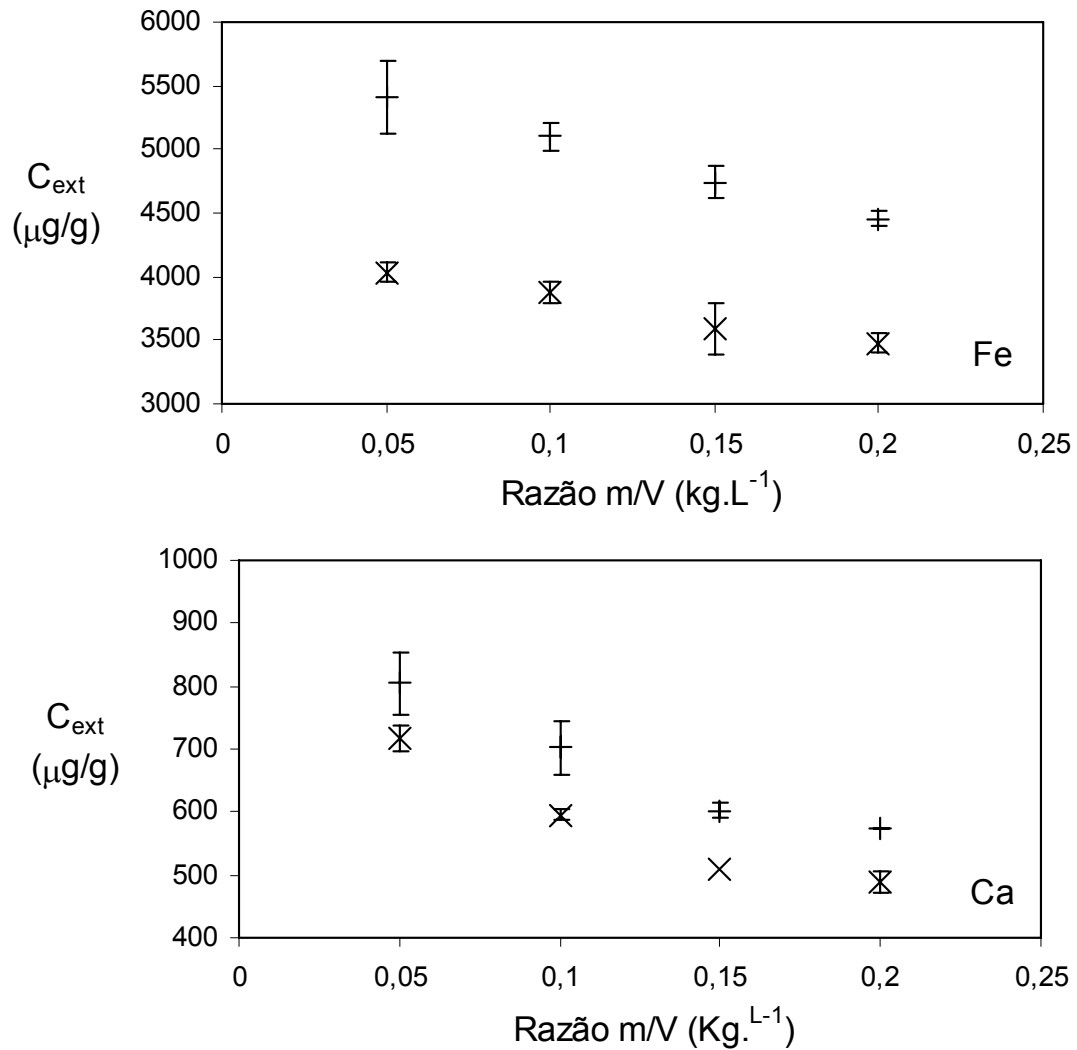
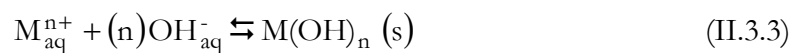


Figura II.3.3: Influência da razão m/V sobre a quantidade de Fe e Ca extraída por grama de sedimento (sedimento 1B (x) e 2B(+)); EDTA (0,05M) a pH = 4,5; média de duas réplicas e desvio padrão.

Esta variação foi atribuída a precipitação dos hidróxidos de ferro e de cálcio que passam desta forma novamente para a fase sólida (Fangueiro *et al.*, 2002). A reacção de formação dos hidróxidos de Fe e Ca é descrita pela equação seguinte:



com $M_{aq}^{n+} = Fe^{2+}, Fe^{3+}$ ou Ca^{2+} .

Quanto maior for o valor do pH e a concentração de catião metálico em solução, maior será a quantidade de MOH formada. Uma vez que a quantidade de Fe e Ca extraída é muito elevada, parte destes catiões metálicos vão ser precipitados e passar novamente para a fase sólida.

A variação de pH durante a extracção é outro factor a ter em consideração. Assim, como aparece na Figura II.3.4, quanto maior é a razão m/V, maior é a variação do pH da solução de extracção. O aumento do pH final da solução de EDTA com o aumento da razão m/V deve-se ao facto do sedimento ter um pH próximo de 7,0 (Valega, 2002). Logo, ao misturar-se o sedimento com a solução de EDTA que apresenta pH 4,5 ocorre um aumento do pH cuja amplitude depende da quantidade de sedimento e, consequentemente, da razão m/V.

Em conclusão, um aumento da razão m/V gera um aumento do pH, aumento este que pode provocar, por sua vez, a precipitação do ferro e do cálcio que passam novamente para a fase sólida sob a forma de hidróxidos.

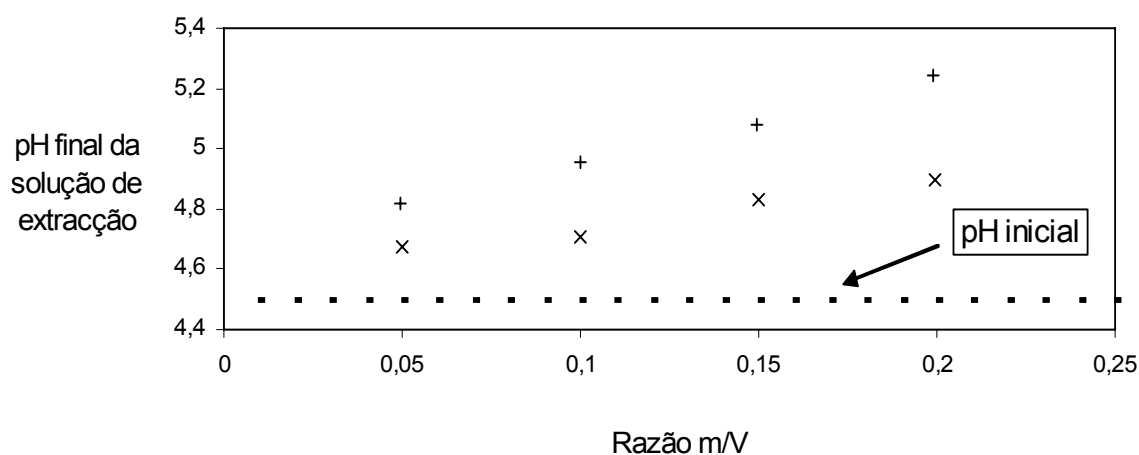


Figura II.3.4: Variação do pH da solução de extracção em função da razão m/V (sedimento 1B (x) e 2B(+)); EDTA (0,05M) a pH = 4,5.

A competição entre os metais estudados e os metais maioritários, como o cálcio ou o ferro, na complexação pelo EDTA, é um parâmetro que deve também ser considerado na escolha da razão m/V. A constante de estabilidade do complexo Ca-EDTA é bastante fraca ($pK = 10,7$) quando comparada com as constantes dos complexos formados pelo EDTA com o Cu, o Cd e o Pb ($pK > 16,5$). Além disso, verificou-se com o programa de cálculo de especiação

“CHEAQS” (Verweij, 1999) que, mesmo na presença de um grande excesso de cálcio, os três metais estudados são todos complexados pelo EDTA enquanto que apenas uma parte do cálcio é complexado. No entanto, a concentração de cálcio extraída é muito superior à concentração dos metais vestigiais, pelo que poderá sempre existir competição por parte do cálcio. Por outro lado, o ferro, devido ao valor elevado da constante de estabilidade do complexo formado com o EDTA, é um grande concorrente para os metais vestigiais. A utilização de uma razão m/V elevada, ao extrair menos cálcio e ferro, permitirá assim reduzir a competição destes dois metais maioritários sobre a extracção do Cu, Cd e do Pb.

Não obstante, a escolha do valor da razão utilizada deverá ter em consideração outros critérios. Por um lado, a razão m/V deve ser suficientemente grande para que as concentrações de metais em solução sejam superiores aos limites de detecção da F-AAS tal como se demonstrou acima. Por outro, a razão m/V utilizada deve permitir uma filtração rápida da solução de extracção. Para poder levar a cabo um estudo cinético, o tempo de filtração tem de ser o mais curto possível. Note-se que quanto maior a razão m/V, maior a massa de sedimento e, conseqüentemente, mais difícil será a filtração.

Tendo em conta todos estes factores, escolheu-se um valor de razão m/V igual a 0,15 kg.L⁻¹, uma vez que esta razão permite obter uma concentração em solução de metais extraídos suficientemente elevada para ser determinada por F-AAS e requer tempos de filtração relativamente curtos (sempre inferiores a 10 % do tempo de extracção considerado).

II.3.2.3. Influência da concentração de EDTA sobre a extracção de metais vestigiais em sedimentos

Vários estudos mostraram que a solubilização dos metais aumenta com a concentração de EDTA (Bourg *et al.*, 1994; Davis e Upadhyaya, 1996; Yu e Klarup, 1994). É, portanto, necessário garantir que, ao longo de todo o tempo de extracção, exista um excesso de EDTA para que a quantidade de EDTA não seja um factor limitante da extracção.

No presente trabalho, considerou-se que o EDTA está em excesso perante a quantidade de um certo metal, se o aumento da concentração de EDTA em solução não se traduzir num aumento da quantidade de metal extraído. Estudou-se, portanto, a capacidade de extracção do Cu, Cd, Pb pelo EDTA em função da sua concentração. Para esse efeito, procedeu-se à extracção destes quatro metais usando soluções de EDTA com concentrações no intervalo

[0,001; 0,1 M]. O pH inicial das soluções de EDTA era igual a 6,0 e a razão m/V usada foi de 0,15 kg.L⁻¹.

A Figura II.3.5 apresenta as variações da quantidade extraída de Cu, Cd e Pb por soluções de EDTA com concentrações crescentes. Os resultados apresentados são o valor médio de três réplicas. Para os três metais estudados observou-se o mesmo comportamento: a quantidade extraída aumenta rapidamente com a concentração de EDTA até ser atingido um patamar, o qual se verifica quando a concentração de EDTA é igual ou superior a 0,05 M. Pode, então, concluir-se que, para concentrações iguais ou superiores a 0,05 M, a quantidade de metal extraído já não depende da concentração de EDTA e, portanto, que o EDTA está em excesso perante os três metais estudados.

Este resultado está de acordo com outros estudos (*Bordas e Bourg, 1998; Yu e Klarup, 1994*) que mostraram que um aumento da concentração de EDTA acima de 0,05 M não proporciona um aumento da quantidade de metal extraído. É ainda de salientar que esta concentração de EDTA foi recomendada por *Ure (1993)* no protocolo de harmonização das técnicas de extracção do "European Community Bureau of Reference".

Devido às propriedades ácido-base do EDTA, devem também ser consideradas as variações de pH que ocorrem durante a extracção. Como é possível observar na Figura II.3.6, o EDTA encontra-se sob várias formas dependendo do pH da solução. Assim, para valores de pH entre 3 e 8, o EDTA encontra-se maioritariamente sob as formas H₂Y²⁻ e HY³⁻.

Na Figura II.3.7 está representado o pH final da solução de EDTA (após extracção) em função do seu pH inicial para várias concentrações de EDTA, no caso do sedimento 2A e do sedimento 3A. Em primeiro lugar, é possível concluir que, quanto maior é a concentração de EDTA, menor é a variação do pH durante a extracção. Segundo *Yu e Klarup (1994)*, o excesso de EDTA poderá, em certos casos, ter um efeito tampão, impedindo assim variações do pH da solução.

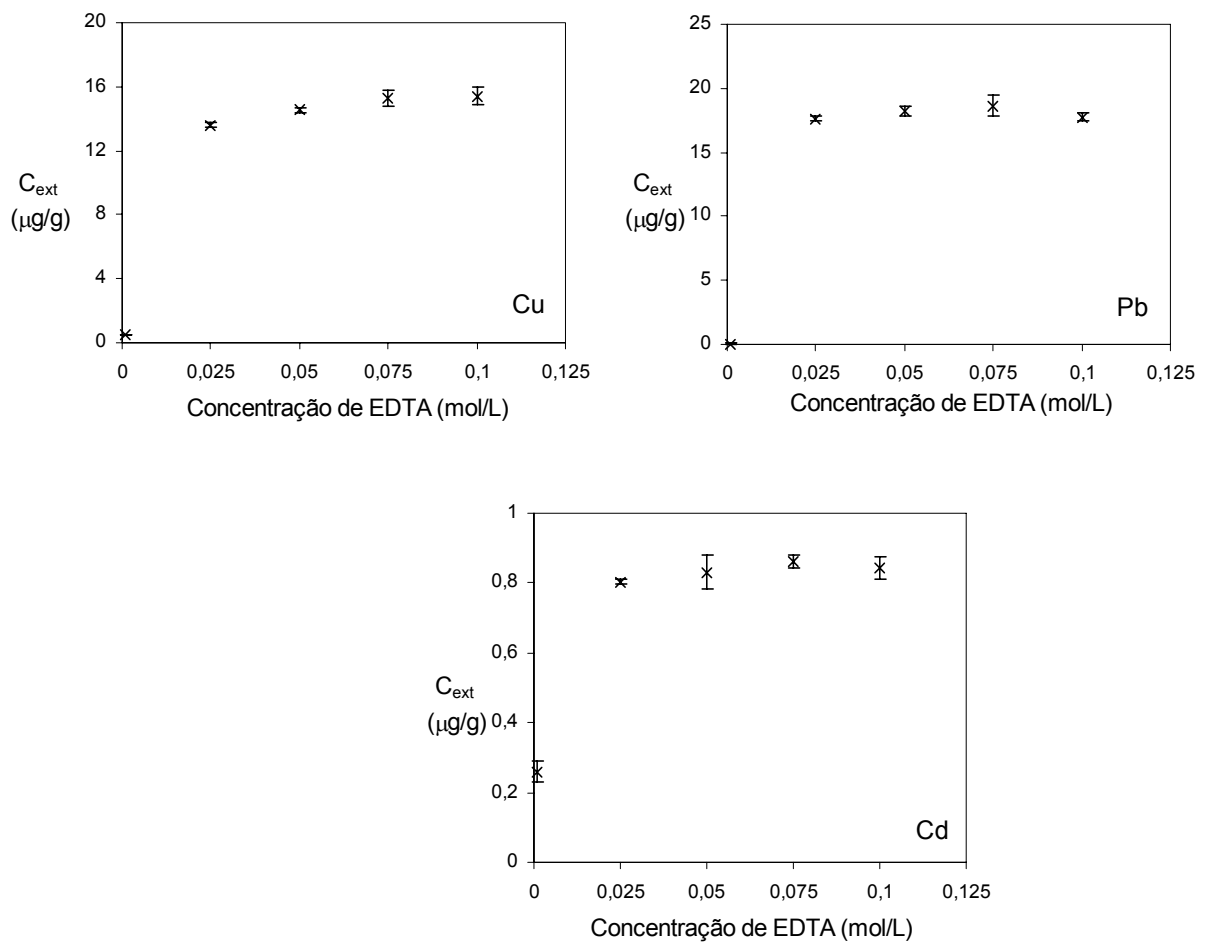


Figura II.3.5: Efeito da concentração de EDTA sobre a quantidade extraída de Cu, Cd e Pb no Sedimento 4B; $pH=6,0$; $m/V=0,15 \text{ kg.L}^{-1}$ (média de três replicas com desvio padrão).

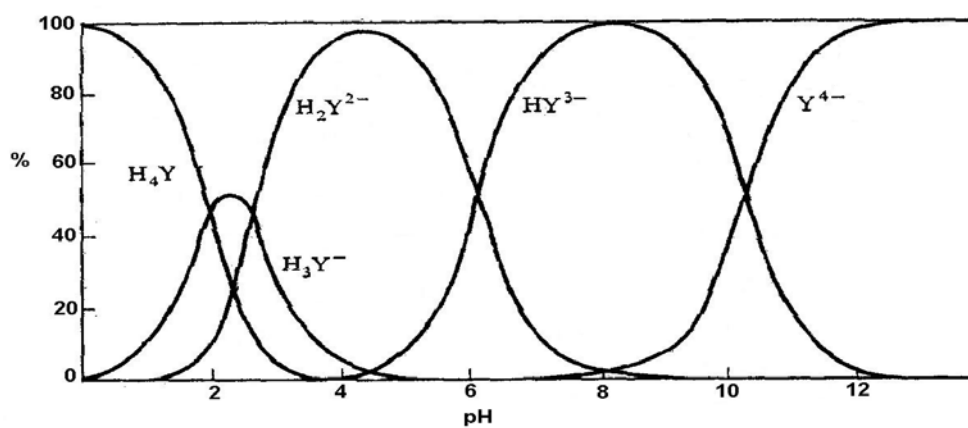


Figura II.3.6: Representação da dissociação do EDTA em função do pH (Pribil, 1972).

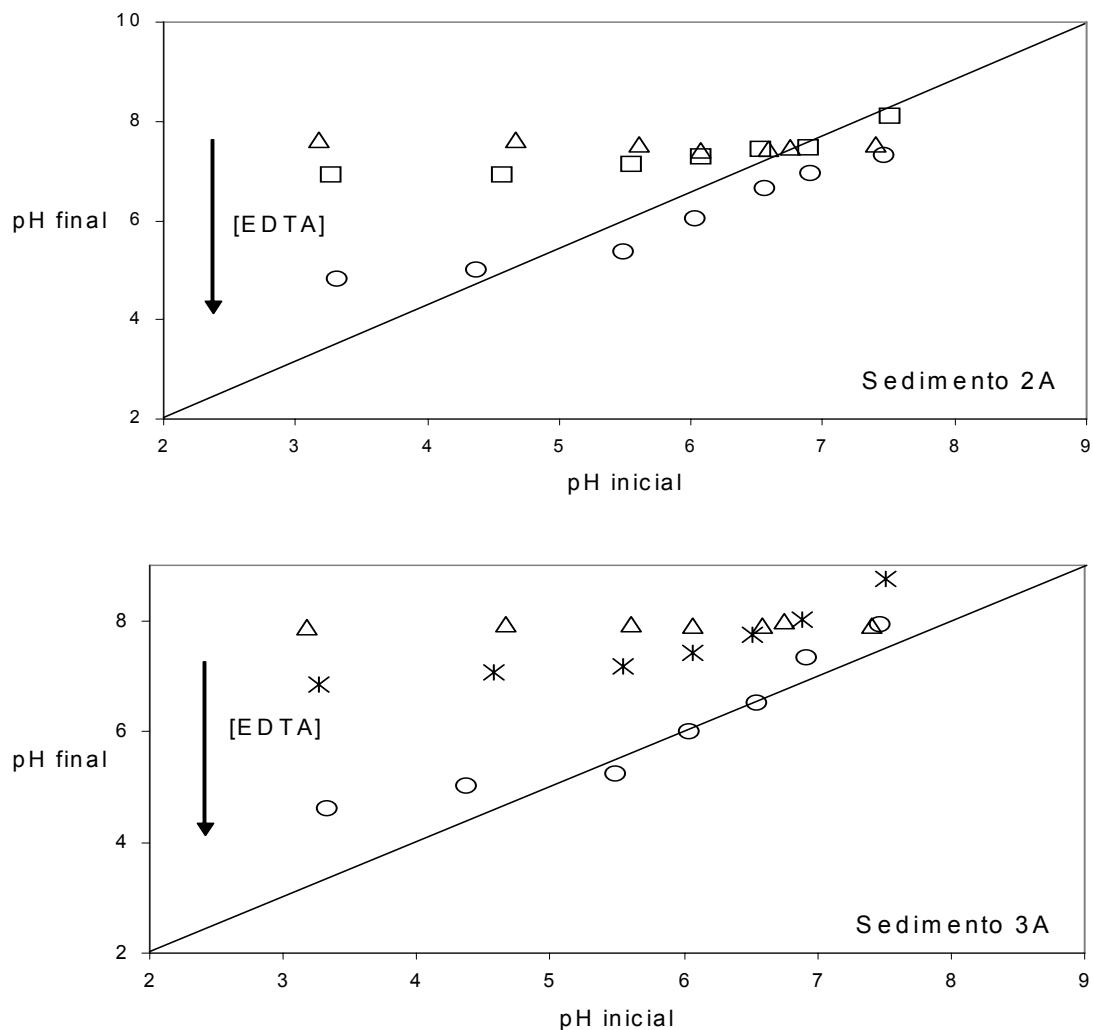


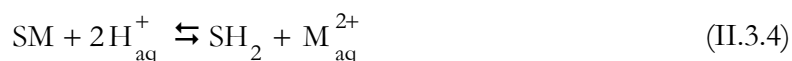
Figura II.3.7: Influência do pH inicial e da concentração de EDTA sobre a variação do pH da solução de EDTA durante a extração de metais; Δ : $[EDTA] = 0,001M$; \square : $[EDTA] = 0,01M$; \circ : $[EDTA] = 0,05 M$.

Por outro lado, verifica-se que é para os valores iniciais de pH mais elevados que se observam as mais pequenas variações de pH da solução de EDTA. Uma explicação possível será o facto do pH natural dos sedimentos superficiais ter, geralmente, um valor próximo de 7,0 (Valega, 2002). Assim, no caso das soluções de EDTA com pH inicial de valor inferior a 5,0, a mistura do sedimento com a solução de EDTA, poderá provocar um aumento do valor de pH. Assim, para os dois sedimentos estudados, quando a concentração de EDTA é igual a 0,05 M e para valores iniciais de pH entre 5,5 e 6,5, a variação de pH é sempre inferior a 0,1 unidades de pH. Em conclusão, uma solução de EDTA de concentração igual a 0,05 M e de pH inicial com valores compreendidos entre os 5,5 e 6,5 garante um excesso de EDTA perante a quantidade de metais extraídos e induz uma variação de pH mínima durante a extracção.

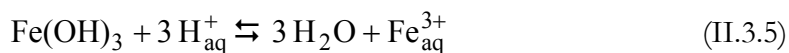
II.3.2.4. Influência do pH sobre a extracção pelo EDTA de metais vestigiais em sedimentos

O pH é um parâmetro que regula, em grande parte, a desorção dos metais vestigiais presentes em sedimentos (*Bourg e Loch, 1995*). Desta forma, a quantidade de metais extraídos pelo EDTA poderá depender do pH da solução de extracção. Geralmente, o pH da solução de extracção é escolhido de forma a extrair a maior quantidade de metal possível. No entanto, a escolha do pH não pode ter em conta somente este factor. De uma forma geral, em todos os sedimentos, uma diminuição do pH induz um aumento da quantidade de metais que passam para a solução, por intermédio de dois tipos de reacções (*Ghestem, 1998*):

- reacções de troca catiónica entre os protões da solução e os catiões metálicos (M^{2+}) associados aos sítios de fixação (S) do sedimento:



- reacções de dissolução das fracções do sedimento solúveis em ácido (hidróxidos, carbonatos, etc.) que podem libertar metais destas fracções:



Logo, segundo o valor de pH escolhido, e nomeadamente para os valores de pH mais baixos, a extracção dos metais vestigiais poderá ser proporcionada não só pela acção do EDTA, mas também pela acção dos iões H^{+} . Com o objectivo de se poder estimar a acção específica do EDTA, interessa, portanto, numa primeira fase, determinar a gama de pH na qual os metais Cu, Cd, Pb e Fe podem ser extraídos por uma solução de HNO_3 (extracção exclusiva pelos iões H^{+}). Se as extracções com o EDTA forem realizadas fora desta gama de pH, será então possível afirmar que todos os metais são extraídos especificamente pelo EDTA. Procedeu-se, então, ao estudo da extracção, pelo HNO_3 , de metais em sedimentos.

II.3.2.4.1. Extracção dos metais vestigiais pelo HNO₃

Existem vários protocolos de extracção selectiva que utilizam ácidos (nítrico, clorídrico, sulfúrico) como agentes de extracção (*Izquierdo et al., 1997; Polyak e Hlavay, 1999; Rauret, 1998; Savvides et al., 1995; Tessier et al., 1979*). Nestes casos, a extracção está baseada na competição entre catiões metálicos e os iões H⁺ para os sítios de fixação do sedimento.

De modo a avaliar a acção dos protões H⁺, foram realizados estudos de extracção de metais na ausência de EDTA com soluções de HNO₃ (0,3 – 0,8 M). Neste estudo, representou-se a quantidade de metal extraído em função do pH final e não do pH inicial da solução de extracção. Esta escolha foi motivada pelo facto de todos os valores de pH iniciais serem inferiores a 1,0 tornando a sua medição muito difícil face ao rigor e precisão desejados. Todo este trabalho foi realizado seguindo o protocolo descrito na secção II.2.4. Realizaram-se duas réplicas para cada metal e cada sedimento estudado. Nas Figuras II.3.8 e II.3.9 estão representadas as curvas de extracção do Cu, Cd, Pb e Fe pelo HNO₃, na ausência de EDTA, em função do pH final (sedimentos 2A e 3A).

Cada catião metálico apresenta uma curva específica de extracção pelo HNO₃. Efectivamente, no caso da solução de pH final igual a 2,0, é extraída mais de 70 % da concentração total de cádmio, enquanto que para o cobre e para o chumbo apenas são extraídos 12% e 7 %, respectivamente. Nestas condições, o ferro é também pouco extraído: menos de 30% do ferro total é solubilizado. Logo, o HNO₃ extrai com maior facilidade o cádmio do que o cobre, o chumbo ou o ferro. Este tipo de comportamento foi já descrito em estudos anteriores (*Mouvet e Bourg, 1983; Wang et al., 1997*) para os metais aqui considerados.

Alloway (1990) descreveu uma correlação entre o comportamento destes metais e a sua capacidade de formar hidrocomplexos, segundo a seguinte reacção:



Assim, o autor considera que os metais que formam estes complexos com mais facilidade são os metais mais especificamente adsorvidos no sedimento. Segundo esta teoria, a ordem crescente de adsorção seria: Cd << Cu, Pb << Fe (ver Tabela II.3.3). Considerando que os metais mais extraídos pelo HNO₃ são os menos adsorvidos no sedimento, esta teoria parece ser também verificada no presente estudo.

Tabela.II.3.3: Constantes de formação dos hidróxidos $M(OH)^{(n-1)+}$ (log K); I = 0,1 M (Martell e Smith, 1973-1989)

catião	Cu ²⁺	Pb ²⁺	Cd ²⁺	Fe ³⁺
Log K	-7,8	-7,7	-10,1	-2,6

É, ainda, de salientar que, apesar dos sedimentos 2A e 3A terem composições diferentes, nomeadamente em termos da concentração total de metais, quantidade de matéria orgânica ou carbonato, as curvas de extracção obtidas para cada metal, e apresentadas nas Figuras II.3.8 e II.3.9, apresentam a mesma forma no caso dos dois sedimentos. Assim, é possível concluir que a extracção de metais pelo HNO₃ depende apenas do catião considerado e não da matriz.

Em conclusão, o HNO₃ só permite extrair o Cu, Cd, Pb e Fe presente nos sedimentos quando os valores de pH final são inferiores a 4,0. Assim, na presença de EDTA, para soluções com valores de pH final superiores a 4,0, é possível afirmar que a extracção dos metais se deve, somente, à acção do EDTA.

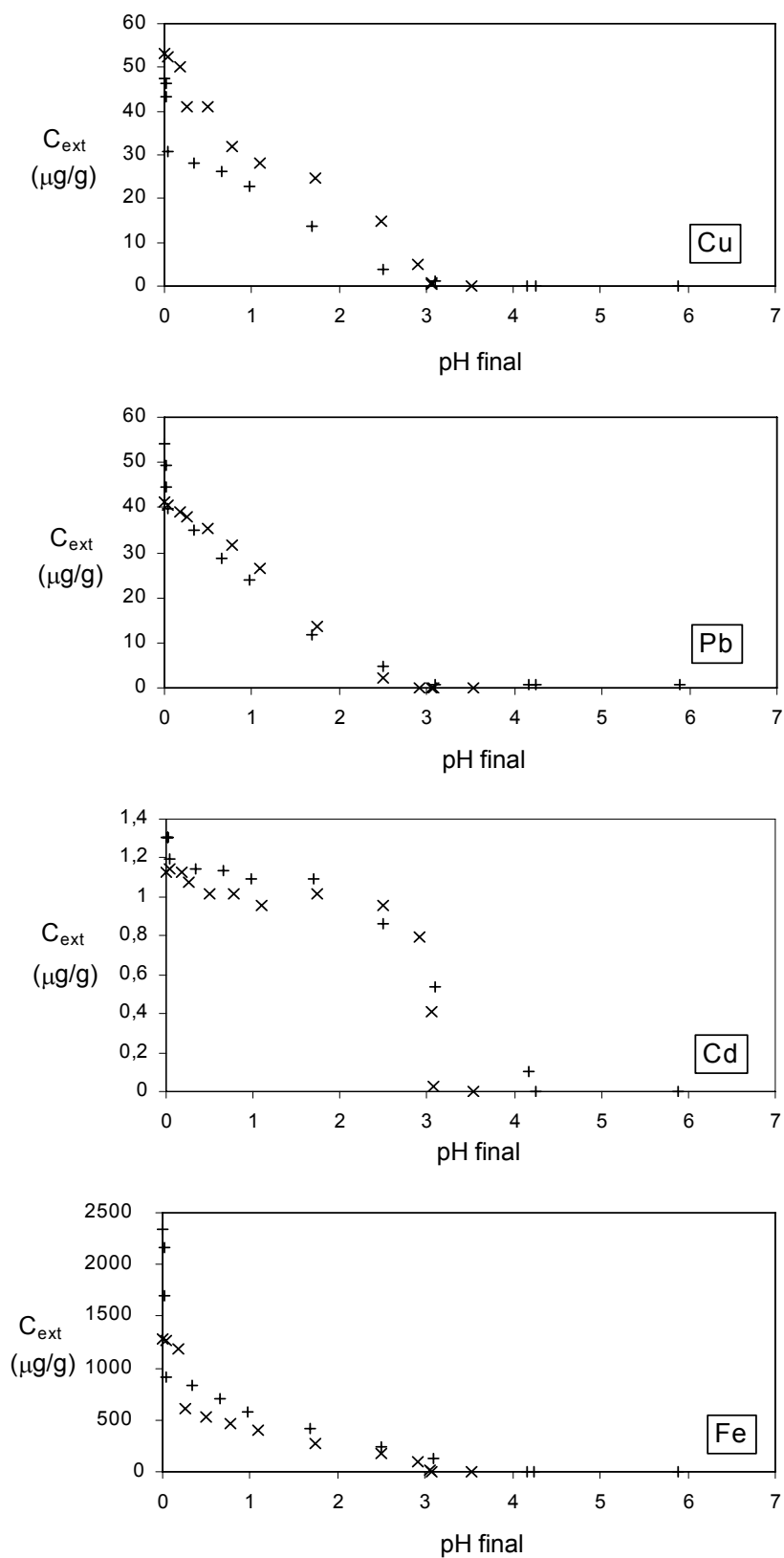


Figura II.3.8: Quantidade de Cu, Pb, Cd e Fe extraída por grama de sedimento na ausência de EDTA, em função do pH; Sedimento 2A (2 réplicas).

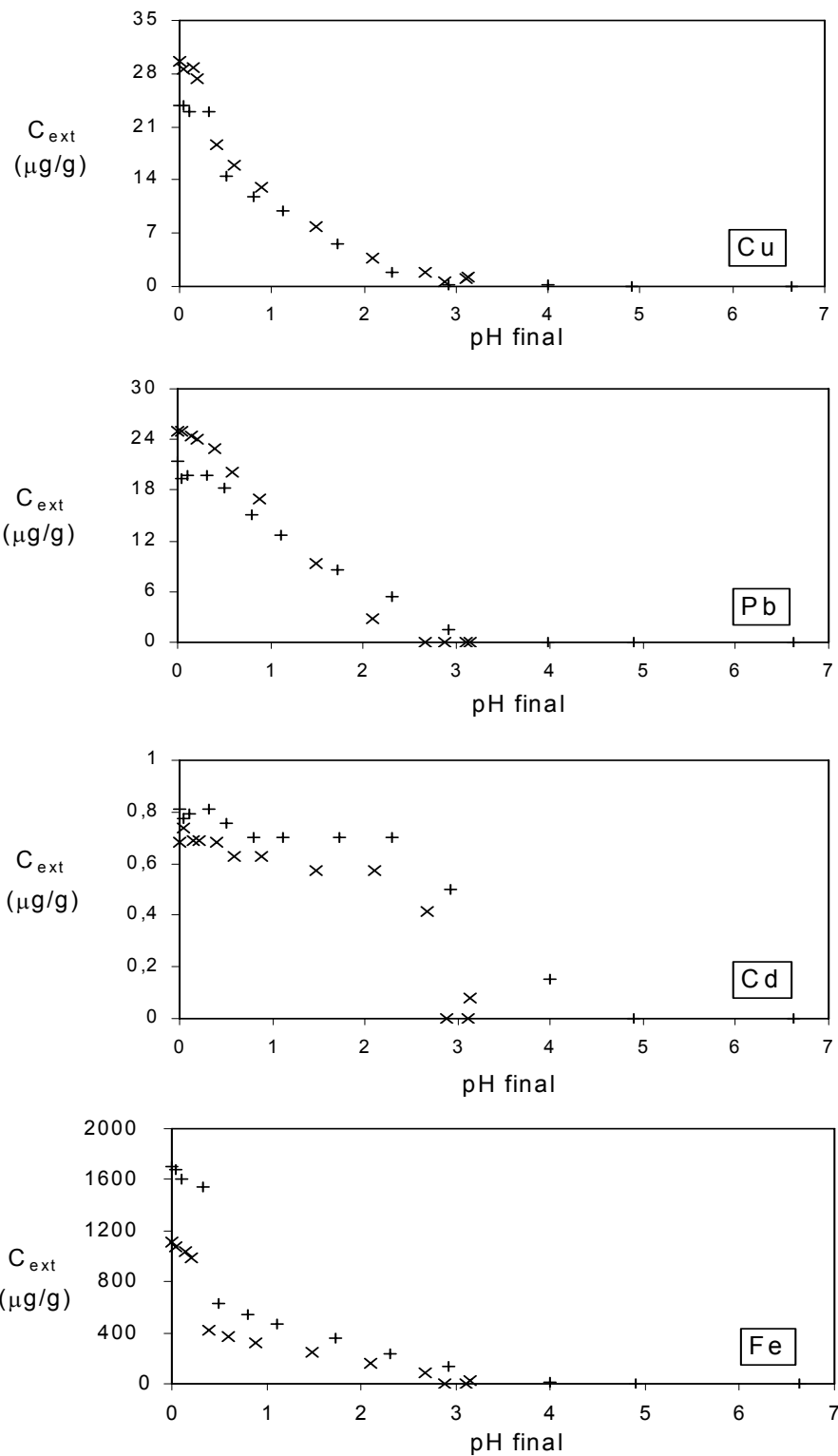


Figura II.3.9: Quantidade de Cu, Pb, Cd e Fe extraída por grama de sedimento na ausência de EDTA, em função do pH; Sedimento 3A (2 réplicas).

II.3.2.4.2. Influência do pH da solução de EDTA sobre a extracção de metais vestigiais

Nesta secção, serão apresentados os resultados do estudo do efeito do pH da solução de EDTA sobre a extracção de Cu, Cd, Pb e Fe em sedimentos. Primeiro, será analisado o efeito do pH sobre as quantidades extraídas. Em segundo lugar, será apresentada a variação do pH ao longo da extracção em função do pH inicial da solução de EDTA.

II.3.2.4.2.1. Efeito do pH inicial da solução de EDTA sobre a quantidade extraída de metais

Devido às suas propriedades ácido-base, a capacidade de extracção do EDTA poderá depender do pH da solução. Para valores de pH mais elevados, o EDTA encontra-se mais desprotonado e deverá, portanto, ter maior afinidade para os cátions metálicos (Figura II.3.6).

De modo a determinar o efeito do pH inicial da solução de EDTA sobre a quantidade extraída de metal, procedeu-se à extracção de Cu, Cd, Pb e Fe em sedimentos usando soluções de EDTA (0,05 M) com diferentes valores de pH e uma razão m/V de 0,15 kg.L⁻¹. O estudo foi realizado com três sedimentos (1B, 2B e 4B).

A Figura II.3.10 mostra a quantidade de Cu, Cd, Pb e Fe extraída por grama de sedimento em função do pH inicial da solução de EDTA, no caso do sedimento 4B. Considerou-se o pH inicial da solução de extracção e não o pH final, como aconteceu no caso da extracção pelo HNO₃. Esta escolha deve-se ao facto de ser mais fácil controlar o pH inicial da solução de EDTA do que o seu pH final após extracção, visto que as variações de pH não são iguais com todos os sedimentos. No entanto, será também considerado o valor final do pH da solução de EDTA, de modo a ser possível relacionar os resultados obtidos na presença e na ausência de EDTA.

De uma forma geral, para valores de pH iniciais entre 3,8 e 8,4 (pH final entre 4,5 e 7,5), não há variações significativas na concentração de Cu, Cd, Pb extraída pelo EDTA nos três sedimentos considerados. Como se pode verificar na Tabela II.3.4, no caso dos três sedimentos estudados, as variações entre o valor máximo e mínimo das concentrações extraídas na gama de pH estudada, são sempre inferiores a 10%. Por outro lado, a Figura II.3.10 mostra, que no caso do sedimento 4B, não existe qualquer tendência regular da quantidade de metais extraídas em aumentar ou diminuir com o aumento do pH. Assim

sendo, é possível concluir que as quantidades máximas extraíveis pelo EDTA são independentes do pH inicial da solução de EDTA, no intervalo $3,8 < \text{pH}_{\text{inicial}} < 8,4$.

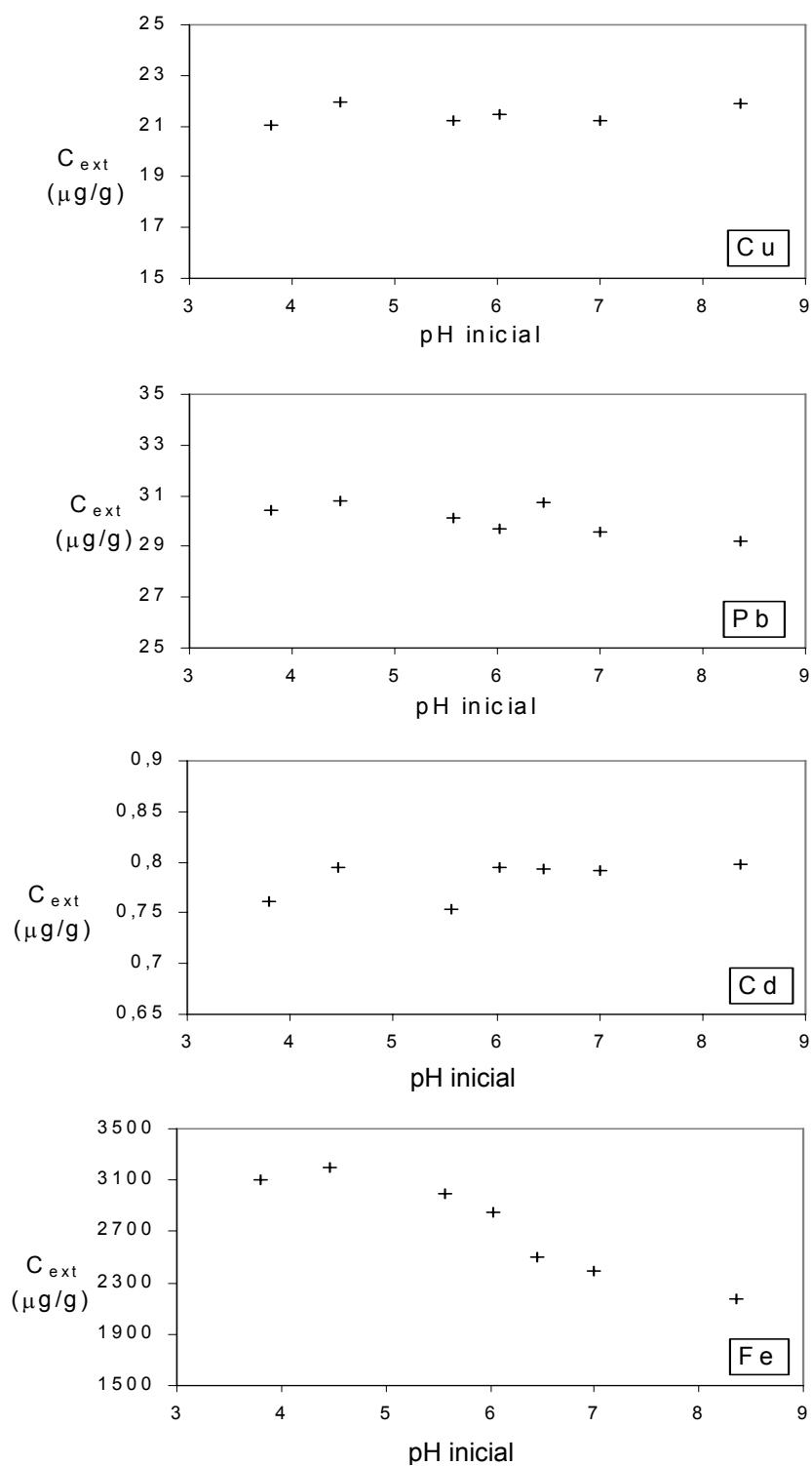
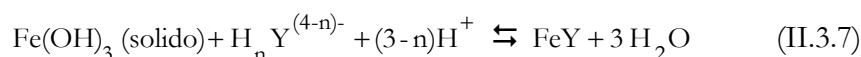


Figura II.3.10: Extração de Cu, Pb, Cd e Pb pelo EDTA (0,05 M) com vários valores de pH inicial; $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$; Sedimento 4B.

Tabela II.3.4: Variações máximas das quantidades de Cu, Cd e Pb extraídas pelo EDTA com vários pH nos sedimentos 1B, 2B e 4B.

	Cu	Cd	Pb
Sedimento 1B	5,0 %	7,8 %	5,7 %
Sedimento 2B	9,9 %	7,2 %	10,0 %
Sedimento 4B	4,4 %	5,5 %	5,3 %

No entanto, no caso do ferro, a concentração extraída, para os três sedimentos estudados, começa a diminuir a partir de $\text{pH}_{\text{inicial}} = 5,6$. Isto poderá ser devido ao facto deste metal se encontrar no sedimento, em grande parte, sob a forma de hidróxidos (*Valega, 2002*). Logo, a reacção química envolvida na extracção do ferro pelo EDTA (Y) deverá ser:



Assim, quando o pH aumenta, a reacção encontra-se fortemente deslocada no sentido indirecto, ou seja, a quantidade de Fe extraído pelo EDTA diminui.

Em conclusão, a quantidade de Cu, Cd e Pb extraído pelo EDTA é independente do pH, numa gama de valores [3,8 – 8,4]. No entanto, a quantidade de Fe extraído pelo EDTA começa a diminuir a partir de $\text{pH}_{\text{inicial}} > 5,6$ confirmando os resultados apresentados na secção II.3.2.3.

II.3.2.4.2.2. Influência do pH inicial sobre a variação do pH da solução de extracção

Na Figura II.3.11 está representado o pH final da solução de EDTA em função do pH inicial para os sedimentos 1B, 2B, 3B e 4B. De uma forma geral, para $\text{pH}_{\text{inicial}} < 7,0$, quanto maior é o valor do pH inicial, menor é a variação do pH da solução de extracção. É de notar que, para valores iniciais de pH inferiores a 6,0, o pH aumenta ao longo da extracção, enquanto que para valores iniciais superiores a 6,0, o pH diminui. No entanto, como se constatou na secção anterior, estas variações não têm nenhum efeito sobre a quantidade de metais vestigiais extraídos.

Como é possível ver na Tabela II.3.5, a variação do pH é mínima para valores de $\text{pH}_{\text{inicial}}$ próximos de 6,0, para os quatro sedimentos estudados. Recomenda-se, portanto, a utilização

de uma solução de EDTA de pH inicial igual a 6,0, de modo a minimizar as variações de pH durante a extracção.

É ainda de notar que as variações de pH da solução de extracção têm uma amplitude idêntica em todos os sedimentos estudados. Conclui-se, então, que a variação de pH deve-se somente à extracção dos metais, e não a própria constituição do sedimento, nomeadamente da presença de compostos orgânicos ou inorgânicos que poderiam fazer variar o pH.

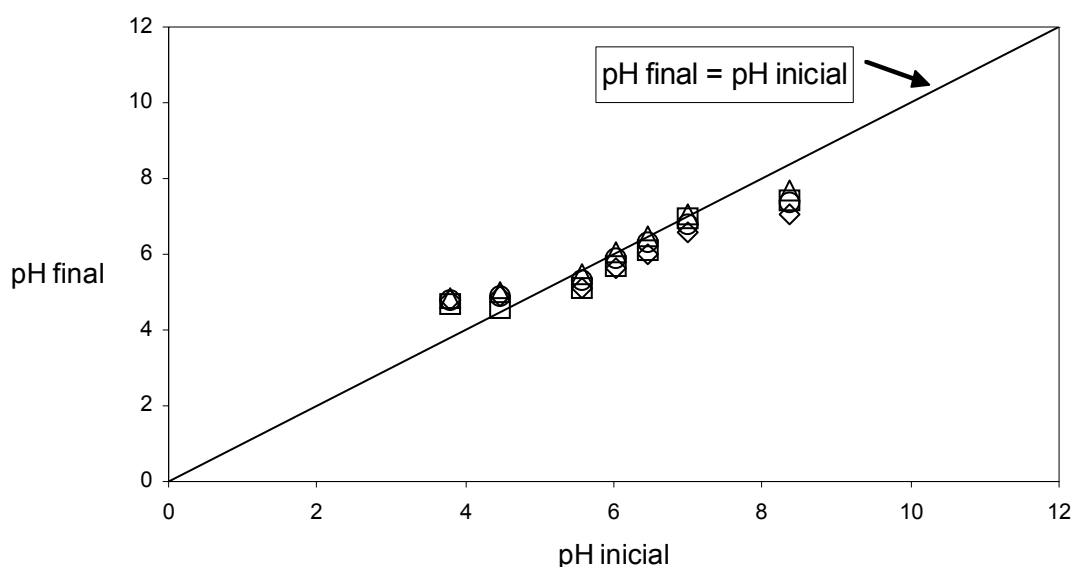


Figura II.3.11: Variação do pH durante a extracção dos metais pelo EDTA.- \circ : sedimento 1B; \triangle : sedimento 2B; \square : sedimento 3B; \diamond : sedimento 4B.

Tabela II.3.5: Variação de pH durante a extracção de metais pelo EDTA (0,05 M) com diferentes valores de $pH_{inicial}$, no caso dos sedimentos 1B, 2B, 3B e 4B.

$pH_{inicial}$	Sedimento 1B	Sedimento 2B	Sedimento 3B	Sedimento 4B
3,8	27,2 %	27,3 %	22,1%	26,6 %
4,5	9,0 %	12,6 %	2,9 %	9,6 %
5,6	4,3 %	1,6 %	8,4 %	8,6 %
6,0	2,0 %	0,2 %	5,8 %	6,3 %
6,4	2,0 %	0,8 %	5,6 %	7,1 %
7,0	3,1 %	1,0 %	1,0 %	6,0 %
8,4	12,3 %	8,2 %	11,4 %	16,8 %

II.3.2.4.2.3. Conclusão

O estudo de extracção pelo HNO_3 permitiu concluir que a extracção dos metais vestigiais pela acção do protão só ocorre quando o valor do pH final das soluções de extracção é inferior a 4,0. No caso da extracção na presença de EDTA, uma solução de EDTA com um pH inicial de valor igual a 6,0 minimiza as variações de pH durante a extracção sem afectar a quantidade de Cu, Cd e Pb extraída. Em conclusão, um valor de pH inicial da solução de EDTA igual a 6,0 garante uma variação mínima do pH e uma extracção máxima dos metais vestigiais pelo EDTA, sem qualquer extracção competitiva por parte do protão.

II.3.2.5. Capacidade de extracção do EDTA

De acordo com os resultados das secções precedentes, uma solução de EDTA de concentração igual a 0,05M e de pH inicial com valor entre 5,5 e 6,0, utilizada numa razão m/V de 0,15 kg.L⁻¹ permite alcançar a capacidade óptima de extracção pelo EDTA do Cd, Cu e Pb em sedimentos, sem qualquer extracção competitiva do H^+ , nem variações significativas de pH durante a extracção.

Tendo em consideração estes resultados, procedeu-se, com estas condições experimentais, a extracção, pelo EDTA, do cobre, cádmio, chumbo e ferro em quatro amostras de sedimento (1B, 2B, 3B e 4B) de modo a avaliar a capacidade de extracção do EDTA. É de referir que o valor de pH escolhido para este trabalho foi de 4,5. Embora não seja o valor óptimo no caso do cobre, do cádmio e do chumbo, uma vez que provoca um ligeiro aumento das variações de pH, escolheu-se este valor porque permite maximizar a extracção dos três metais estudados e ainda a extracção do Fe.

Na Tabela II.3.6 apresentam-se os valores médios da concentração, por grama de sedimento, de Cd, Cu, Pb e Fe extraída C_{ext} . Foram realizadas duas réplicas para cada amostra de sedimento; a variação de valores entre réplicas é sempre inferior a 8 %. De modo geral, o EDTA extrai entre 50 e 80 % da quantidade total de cada metal presente no sedimento. Logo é possível considerar que o EDTA extrai uma fracção significativa dos metais presentes no sedimento sendo, por essa razão, um bom agente de extracção apropriado para os estudos cinéticos que se pretendem realizar.

Tabela II.3.6: Capacidade de extracção do EDTA: comparação da concentração total de metal e da concentração de metal extraído pelo EDTA (0,05M); pH = 4,5 e m/V = 0,15 kg.L⁻¹.
C_{ext} : Concentração de metal extraído pelo EDTA (µg/g), C_{tot} : Concentração total de metal (µg/g) e %_{ext} : percentagem de metal extraído.

	Metal	Cu	Pb	Cd	Fe
Sedimento 1B	C _{ext}	25,1	27,7	0,94	3590
	C _{tot}	43,0	52,2	1,17	7280
	% _{ext}	58,4	53,0	80,0	49,3
Sedimento 2B	C _{ext}	23,8	28,1	0,99	4190
	C _{tot}	48,9	53,7	1,35	8470
	% _{ext}	48,7	52,5	70,4	49,5
Sedimento 3B	C _{ext}	17,1	21,3	0,75	3380
	C _{tot}	29,8	42,7	0,99	6400
	% _{ext}	57,4	49,8	75,6	59,1
Sedimento 4B	C _{ext}	18,8	27,1	0,79	2860
	C _{tot}	29,8	47,3	1,08	4780
	% _{ext}	63,1	57,4	73,1	59,8

II.3.2.6. Conclusão preliminar

Os resultados obtidos nestes estudos, de optimização do método de extracção pelo EDTA de metais em sedimentos, permitiram determinar as seguintes condições de extracção óptimas:

$$[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$$

$$\text{razão m/V} = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$$

$$\text{pH inicial} = 6,0$$

Estas condições experimentais foram as condições utilizadas em todos os trabalhos posteriores sobre fraccionamento de metais vestigiais do sedimento.

II.3.3. Comparação de dois protocolos de extracção

O estudo apresentado na secção II.3.2 permitiu determinar as melhores condições experimentais para a extracção de metais pelo EDTA em sedimentos em condições de equilíbrio entre o sedimento e a solução de extracção. Nesta segunda parte, serão comparados dois protocolos frequentemente utilizados em estudos cinéticos de extracção de metais em solos ou sedimentos.

II.3.3.1. Descrição dos protocolos

São geralmente utilizados dois protocolos nos estudos de fracionamento de metais em solos e sedimentos. No protocolo I, é utilizado apenas um frasco no qual é colocado uma mistura sedimento/EDTA numa razão $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$. A mistura é agitada mecanicamente e são retiradas alíquotas em vários períodos pré-definidos. As alíquotas removidas são imediatamente filtradas, pelo que se pode considerar que a extracção do sedimento é interrompida no momento da recolha da alíquota. Desta forma, obtêm-se várias fracções da solução de extracção correspondentes a diferentes tempos de extracção. Este protocolo tem sido utilizado por vários autores (*Lin e Chen, 1998; Yu e Klarup, 1994*) em estudos de remobilização de metais em sedimentos. No protocolo II são utilizados vários frascos, nos quais é agitada uma mistura sedimento/EDTA numa razão $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$. Cada frasco é agitado durante um tempo diferente, ao fim do qual a solução de EDTA é filtrada, o que permite obter uma solução de EDTA para cada tempo de extracção. *Ghestem (1997)* utilizou este protocolo em estudos de extracção de metais em solos.

Estes dois protocolos foram sempre utilizados separadamente e nunca foram comparados, tanto em termos quantitativos (quantidades de metais vestigiais extraídos), como em termos qualitativos (facilidade de execução). Assim, no presente trabalho, procedeu-se à sua comparação de modo a determinar qual dos dois protocolos é o mais eficiente. Para esse efeito, seguiu-se ao longo do tempo a extracção pelo EDTA do Cu, do Cd, do Pb e do Fe no sedimento 4B com os dois protocolos. Foram realizadas quatro réplicas (duas réplicas em dois dias diferentes), com cada um dos protocolos. As condições experimentais utilizadas foram as condições descritas na secção II.3.2.6. As Figuras II.3.12 e II.3.13 apresentam as curvas de extracção obtidas com o protocolo I e com o protocolo II.

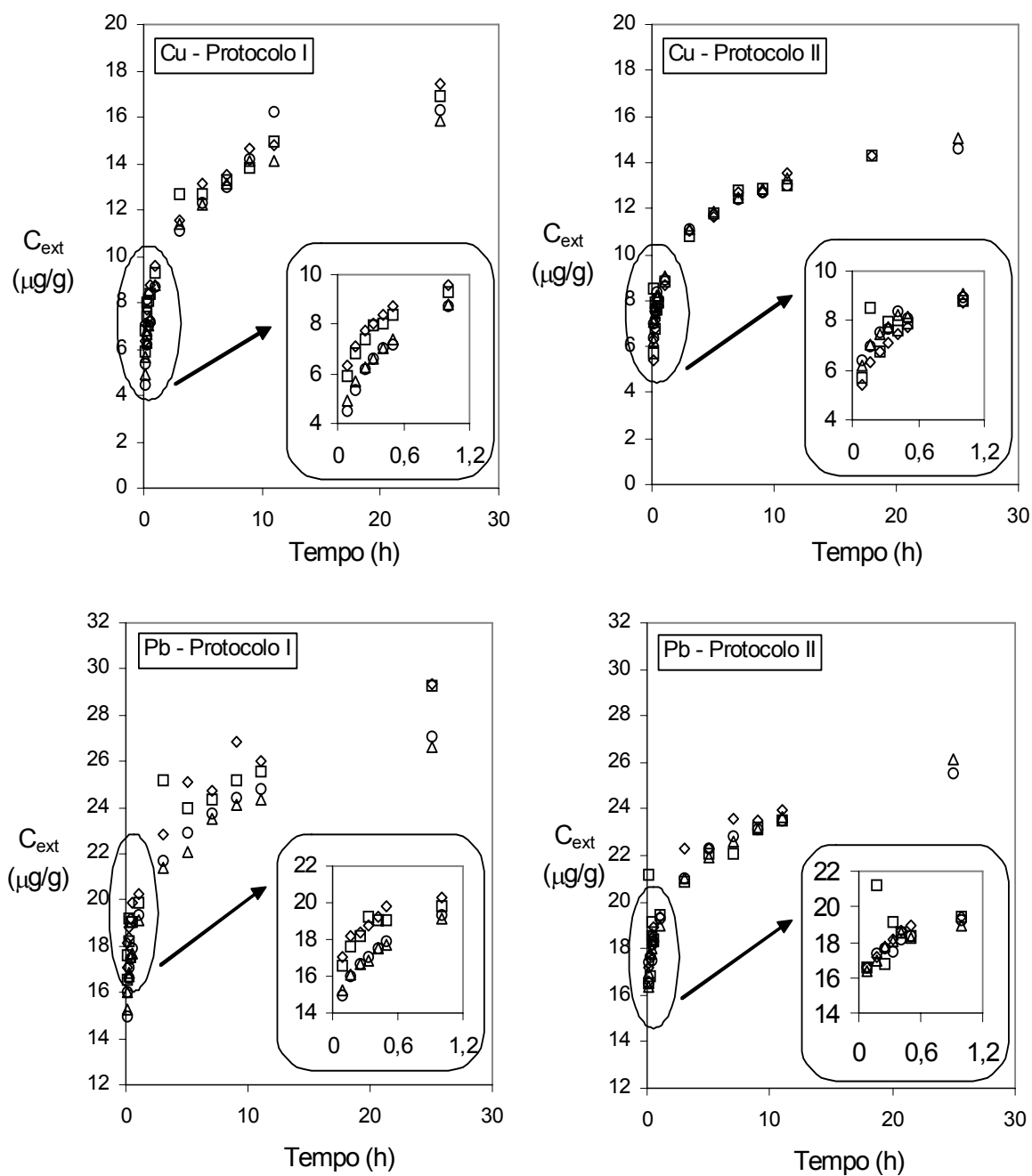


Figura II.3.12: Curvas de extração pelo EDTA do cobre e do chumbo do Sedimento 4B em função do tempo usando os protocolos I e II. $[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$ e $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$.

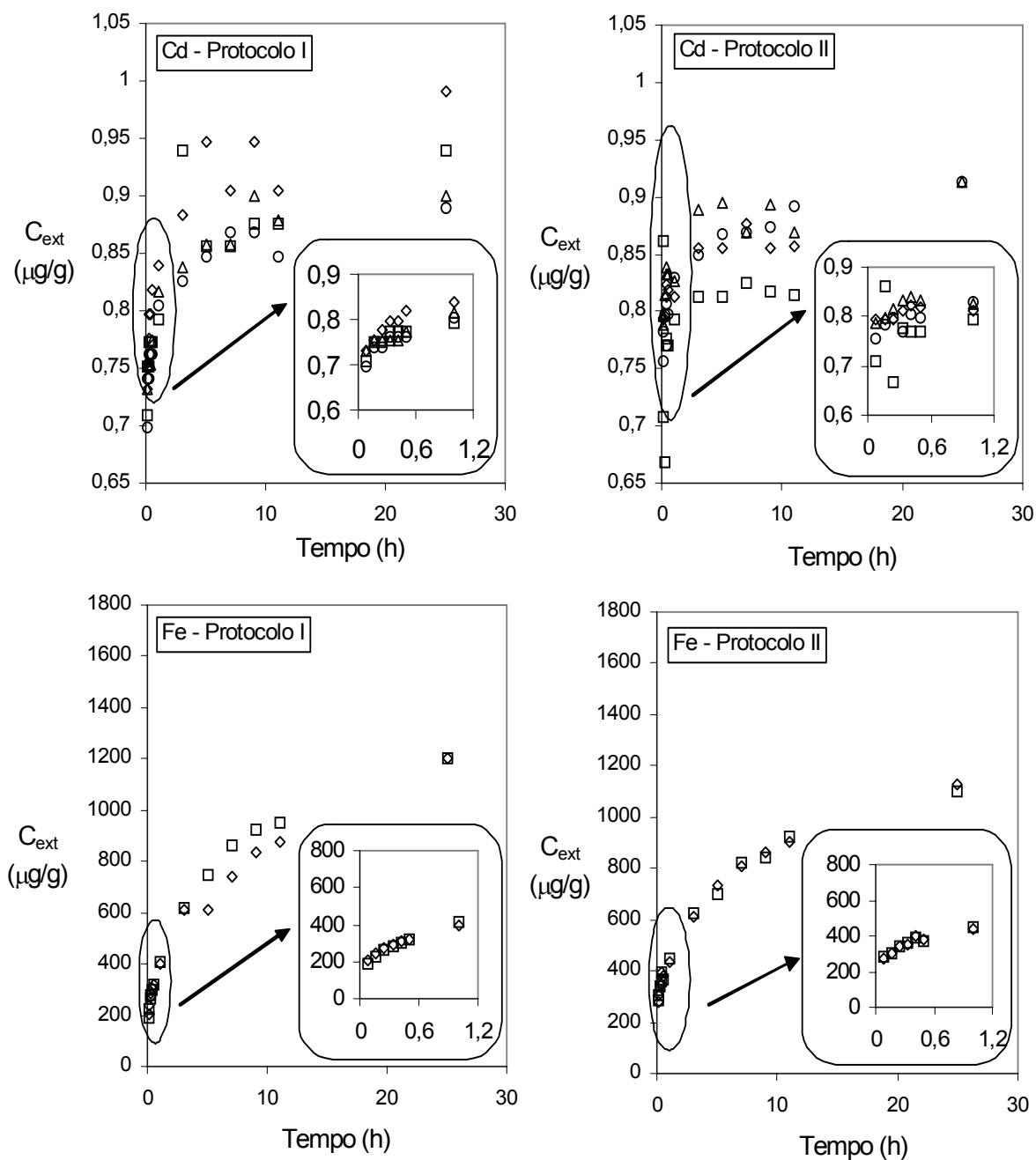


Figura II.3.13: Curvas de extracção pelo EDTA do cadmio e do ferro do Sedimento 4B em função do tempo usando os protocolos I e II. $[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$ e $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$.

De uma forma geral, a concentração de metais extraídos aumenta com o tempo de extracção. As curvas de extracção apresentam, ainda, duas regiões bem distintas: uma primeira, para tempos de extracção inferiores a duas horas, na qual ocorre uma remobilização rápida dos metais pelo EDTA e uma segunda, onde a extracção é muito mais lenta. Este tipo de curva de extracção foi já observado por vários autores em estudos de extracção de metais em solos (Davis e Upadhyaya, 1996; Nowack et al., 1996) e sedimentos (Samanidou e Fytianos, 1990; Yu e Klarup, 1994). Estas curvas serão descritas com mais detalhe no capítulo II.4. Com base nestes resultados experimentais, os dois protocolos foram comparados em termos de variabilidade, de quantidades extraídas e de variação do pH da solução de extracção.

II.3.3.2. Comparação da variabilidade dos protocolos

Na Figura II.3.14 estão apresentadas de curvas de extracção obtidas com cada um dos protocolos no caso do Cu, do Cd, do Pb e do Fe. Os valores apresentados são a média e o desvio padrão de quatro réplicas (duas réplicas em dois dias diferentes) no caso do Cu, do Cd e do Pb e de duas réplicas (duas experiências realizadas em dois dias diferentes) no caso do Fe. Numa primeira análise desta Figura, verifica-se que os resultados obtidos com o protocolo I apresentam uma maior variabilidade, nomeadamente no caso do Cu, Pb e Fe. De forma a comparar com mais rigor a variabilidade dos resultados obtidos com os dois protocolos, realizou-se um estudo estatístico dos resultados obtidos com cada um dos protocolos. Para esse efeito, determinou-se o desvio padrão comum aos 13 tempos de extracção S_C , o qual é definido por (Lang-Michaut, 1990):

$$S_C = \frac{\overline{W}}{C_{(n,p)}} \quad \text{com} \quad \overline{W} = \sum \frac{W(t)}{p} \quad (\text{II.3.18})$$

onde \overline{W} é a média dos valores da variação máxima entre réplicas, $C_{(n,p)}$ é um parâmetro estatístico tabelado (Lang-Michaut, 1990) que depende do número de réplicas (n) realizadas para cada uma das (p) medições e $W(t)$ é a amplitude da concentração de metal extraído por grama de sedimento $C_{ext}(t)$ entre as várias réplicas realizadas para cada tempo de extracção:

$$W(t) = C_{ext}^{\max}(t) - C_{ext}^{\min}(t) \quad (\text{II.3.19})$$

Como foram realizadas quatro réplicas para cada um dos 13 tempos de extracção, tem-se $n = 4$ e $p = 13$.

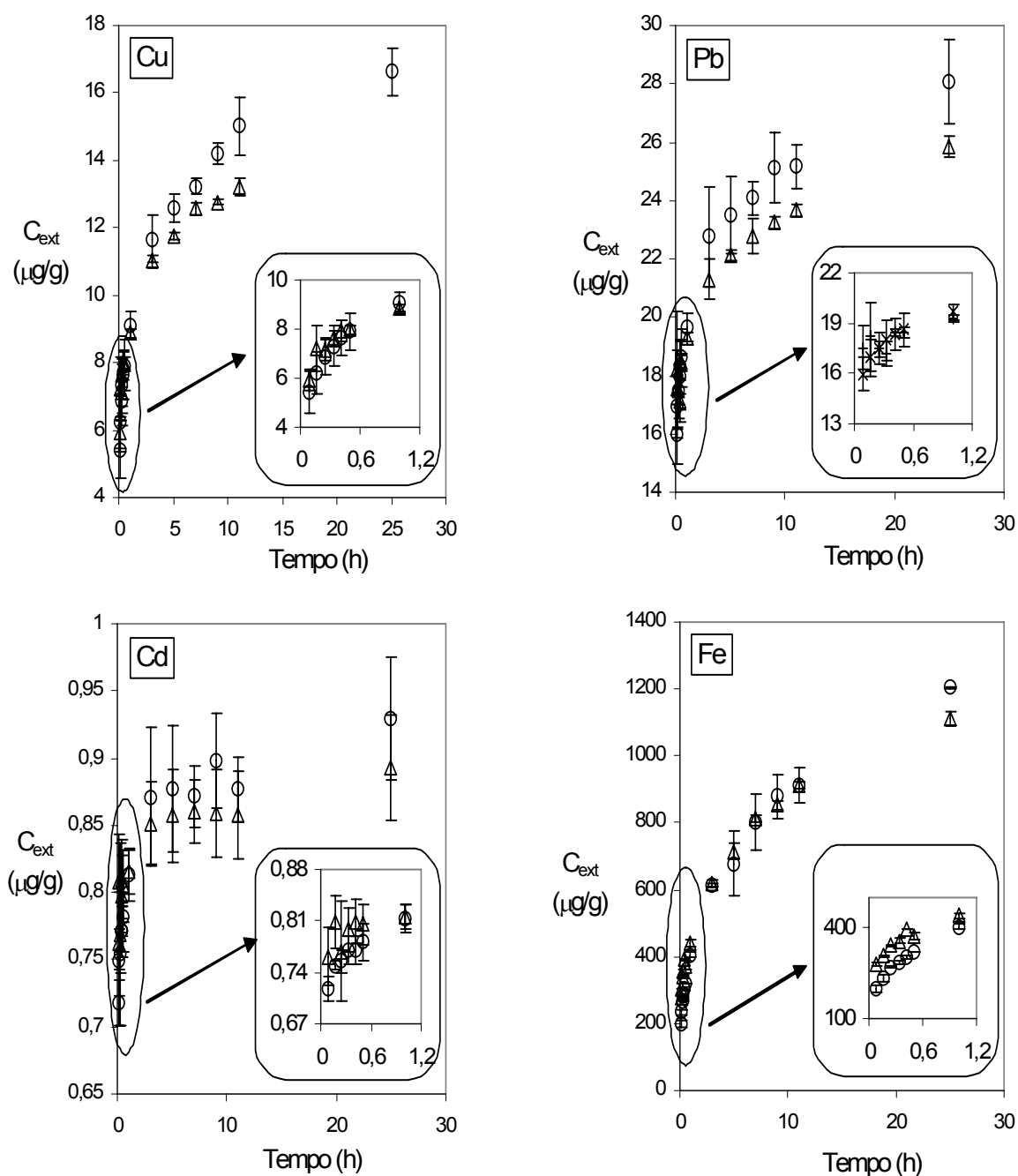


Figura II.3.14: Variabilidade das quantidades de Cu, Cd, Pb e de Fe extraídas pelo EDTA com os protocolos I (o) e II (Δ); média e desvio padrão de 4 réplicas realizadas com o sedimento 4B. $[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{inicial}} = 6,0$, $m/V = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$.

Antes de determinar o valor de S_C , foi necessário verificar se as amplitudes $W(t)$ obtidas para os vários tempos de extracção eram homogéneas. Para esse efeito, foi utilizado um teste equivalente ao *teste de Hartley*, designado por *teste da amplitude* (Lang-Michaut, 1990). Calculou-se o valor da razão r definida por:

$$r = \frac{W(t) \max}{W(t) \min} \quad (\text{II.3.20})$$

e comparou-se o valor obtido com um valor tabelado (Lang-Michaut, 1990). No caso do Fe, como só foram realizadas duas réplicas, o calculo do valor de r foi feito segundo outra

fórmula:

$$r = \frac{W(t) \max}{\sum W(t)} \quad (\text{II.3.21})$$

Se o valor de r calculado for superior ao valor tabelado, significa que não existe homogeneidade nas amplitudes obtidas para os vários tempos de extracção. Neste caso, é necessário analisar o conjunto de dados obtidos e determinar se existem alguns tempos de extracção que conduzem a variações muito superiores. No caso em que o valor de r calculado for inferior ao valor tabelado, então pode concluir-se que as amplitudes da concentração de catião metálico extraído obtidas com os 13 tempos de extracção, são homogéneas (Lang-Michaut, 1990).

Na Tabela II.3.7 apresentam-se os valores de r calculados no caso dos protocolos I e II. O valor tabelado é igual a 19,66 no caso do Cu, do Cd e do Pb e a 0,29 no caso do Fe. Logo, é possível concluir que as amplitudes aqui determinadas são homogéneas e podem ser utilizadas para avaliar o desvio padrão comum S_C (Lang-Michaut, 1990).

Tabela II.3.7: Comparação dos protocolos de extracção - valor de r calculado para cada protocolo.

	Cu	Pb	Cd	Fe
Protocolo I	4,07	3,38	8,40	0,27
Protocolo II	12,94	11,62	3,99	0,18
Valor de r tabelado	19,66	19,66	19,66	0,29

O desvio padrão comum foi determinado no caso da extracção de cada um dos metais estudados e para cada protocolo. Desta forma foi possível comparar, para um mesmo metal, o desvio padrão comum obtido com cada um dos protocolos e determinar qual dos dois tem a

menor variabilidade a nível de resultados. Como se pode verificar na Tabela II.3.8, o valor de S_C obtido para o protocolo I é sempre superior ao valor obtido para o protocolo II, excepto no caso do Cd.

Tabela II.3.8: Valores do desvio padrão comum S_C obtidos no caso da extracção pelo EDTA de Cu, Cd, Pb e Fe do sedimento 4B com os dois protocolos de extracção.

Metais	Protocolo I	Protocolo II
Cu	$67,3 \times 10^{-2}$	$33,4 \times 10^{-2}$
Pb	1,06	$59,0 \times 10^{-2}$
Cd	$2,91 \times 10^{-2}$	$3,57 \times 10^{-2}$
Fe	62,8	12,4

O teste de Fischer-Snedecor foi utilizado para comparar os valores da variância, S_C^2 , de cada protocolo e verificar se os valores são estatisticamente diferentes. Para isso, calculou-se o valor de F definido por (Lang–Michaut, 1990):

$$F = \frac{(S_C^I)^2}{(S_C^{II})^2} \quad \text{com} \quad (S_C^I)^2 > (S_C^{II})^2 \quad (\text{II.3.22})$$

Este valor de F é posteriormente comparado com um valor tabelado que depende do grau de probabilidade requerido para o teste. O valor de F tabelado é de 1,82 ($P = 0,05$) no caso do Cu, do Cd e do Pb (quatro réplicas) e de 2,82 ($P = 0,05$) no caso do Fe (duas réplicas) (Lang–Michaut, 1990). Se o valor de F calculado for superior ao valor tabelado então pode-se concluir que $(S_C^I)^2$ é significativamente superior a $(S_C^{II})^2$. A Tabela II.3.9 apresenta os valores de F calculados e tabelados para cada metal.

Constata-se que, para o Cu, Pb e Fe, a variância do protocolo I é significativamente superior à do protocolo II. No entanto, no caso do Cd, pode considerar-se que os dois protocolos têm a mesma variância.

Tabela II.3.9: Valores calculados e tabelados de F no caso do Cu, do Pb, do Cd e do Pb (*teste de Fischer – Snedecor*)

Valor de F	Cu	Pb	Cd	Fe
Calculado	4,06	3,23	1,58	25,6
Tabelado (<i>Lang – Michaut, 1990</i>)	1,82	1,82	1,82	2,82

Estas diferenças de variabilidade dos resultados obtidos com os dois protocolos podem ser explicadas considerando as diferenças operacionais existentes entre os protocolos ou seja, o tipo de agitação, o modo de recolha das alíquotas e, ainda, a variação da razão m/V . Assim, a primeira grande diferença entre os dois protocolos é o facto de se ter uma agitação contínua no caso do protocolo II, enquanto que no protocolo I a agitação é interrompida sempre que se recolhe uma amostra. Efectivamente, a eficiência da extracção dos metais vestigiais pelo EDTA diminui sempre que a agitação da mistura sedimento/EDTA é interrompida, devido à diminuição da transferência de massa do sedimento para a solução (*Fangueiro et al., 2002*). Por outro lado, o tempo necessário à recolha de uma alíquota poderá variar de uma recolha para outra, pelo que estas interrupções representam uma fonte importante de variabilidade na quantidade de metal extraído (*Fangueiro et al., 2002*).

No caso do cádmio, estas interrupções não parecem ter nenhum efeito significativo sobre a variabilidade dos resultados. Como se verificou na secção II.3.2.5, este metal é extraído com muito mais facilidade do que o Cu, o Pb ou o Fe. Deste modo, a agitação da mistura sedimento/EDTA terá um efeito muito pouco notório sobre a quantidade de Cd extraído pelo EDTA e, consequentemente, a descontinuidade da agitação da mistura sedimento/EDTA não induz qualquer variabilidade nos resultados obtidos com este metal.

A variação da razão m/V no caso do protocolo I é outro factor importante a considerar. No protocolo II, a razão m/V é conhecida e constante ao longo da extracção. No entanto, no caso do protocolo I, apesar de haver sempre um grande cuidado em recolher uma mistura homogénea com o objectivo de manter a razão m/V constante, poderá ter acontecido que a razão m/V variasse, nomeadamente no caso dos tempos de extracção mais longos. De forma a confirmar esta hipótese, foi calculada a variação da razão m/V no caso de um erro negativo de 5 % no valor da massa de sedimento recolhido em cada alíquota. Verificou-se, nesse caso, que a variação da razão m/V aumenta com o número de alíquotas recolhidas, podendo atingir os 10 % para as últimas alíquotas. Esta variação introduz um erro significativo nos resultados,

uma vez que a concentração de metal extraído por grama de sedimento é calculada a partir da seguinte fórmula:

$$C_{Sed} = C_{Sol} \times \frac{V}{m} \quad (II.3.23)$$

em que C_{Sed} é a concentração de metal por grama de sedimento e C_{Sol} a concentração de metal na solução de EDTA, determinada por FAAS.

Neste cálculo, a razão m/V é considerada constante. Logo, no caso do protocolo I, a concentração de metal extraído por grama de sedimento será afectada de uma maior variabilidade devido ao erro que se introduz no cálculo de C_{Sed} provocado pelas variações de m/V .

No protocolo II, a agitação da mistura sedimento/EDTA é contínua e a razão m/V dessa mistura é constante pelo que todas as fontes de variabilidade acima descritas são eliminadas. O protocolo II representa, assim, uma melhor escolha em termos de variabilidade dos resultados.

II.3.3.3. Quantidade de metais extraídos e variação do pH

Como se constatou na secção anterior, os dois protocolos apresentam algumas diferenças, nomeadamente em termos de agitação, as quais poderão ter, também, influência sobre a quantidade de metais extraídos com cada protocolo. A Figura II.3.15 representa a correlação entre a concentração média por grama de sedimento de metais extraídos com os protocolos I e II. A recta representada em traço descontínuo representa a situação ideal em que as concentrações extraídas com os dois protocolos são idênticas. A Tabela II.3.10 contém os valores do declive, da ordenada na origem e do coeficiente de correlação obtidos para a recta de correlação $C_{ext} (protocolo II) = f(C_{ext} (protocolo I))$ no caso do Cu, Cd, Pb e Fe.

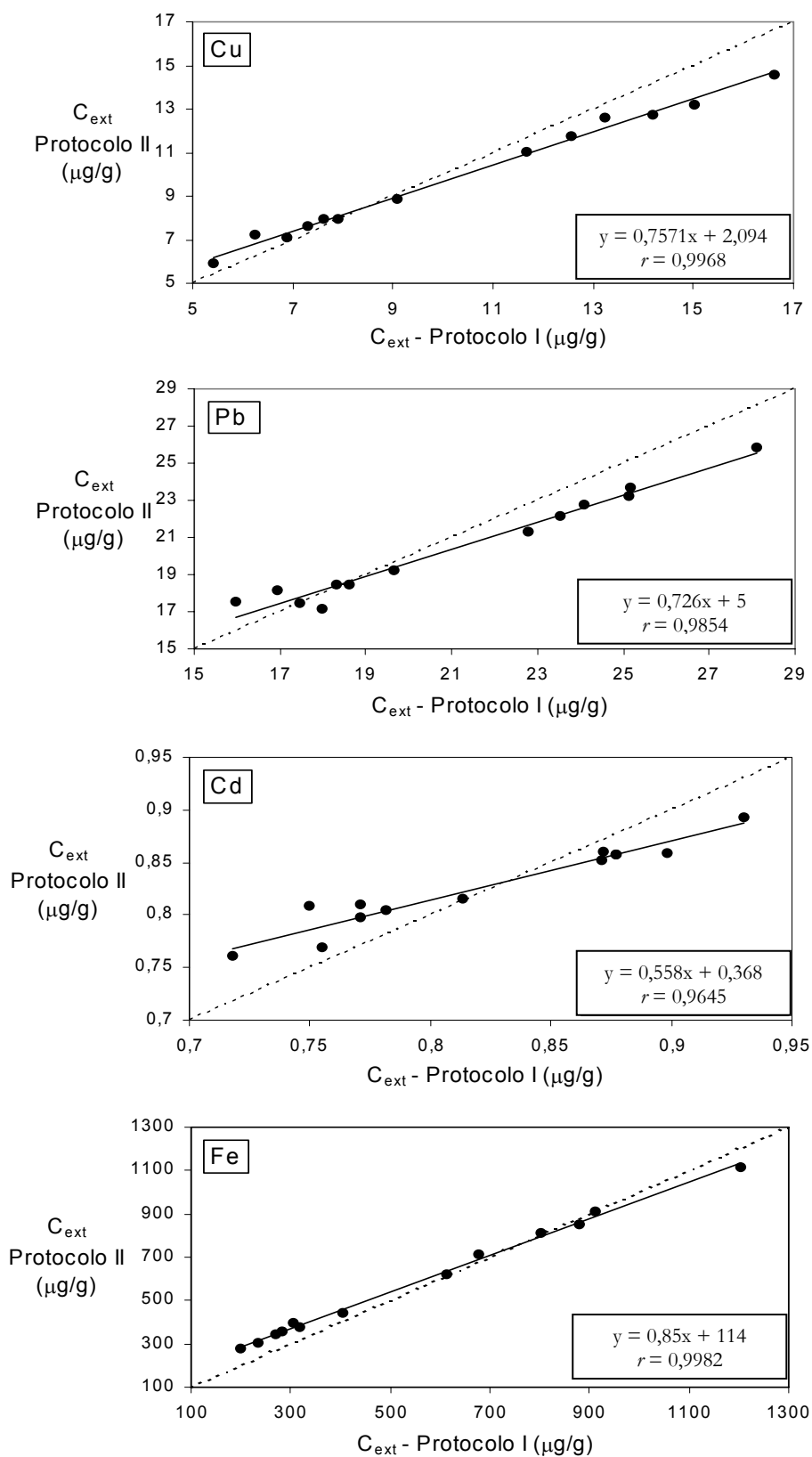


Figura II.3.15: Correlação entre as concentrações de Cu, Cd, Pb e Fe extraído pelo EDTA com os protocolos I e II no sedimento 4B. A linha a tracejado representa a situação em que $C_{\text{ext}}(\text{protocolo I}) = C_{\text{ext}}(\text{protocolo II})$.

Tabela II.3.10: Parâmetros da recta de correlação entre as quantidades de Cu, Cd, Pb e Fe extraídas com os protocolos I e II; sedimento 4B.

	Cu	Pb	Cd	Fe
Declive	$0,7571 \pm 0,0006$	$0,726 \pm 0,003$	$0,558 \pm 0,003$	$0,85 \pm 0,06$
Ordenada na origem	$2,094 \pm 0,002$	5 ± 1	$0,368 \pm 0,003$	114 ± 9
<i>r</i>	$0,9968 (P<0,0001)$	$0,9854 (P<0,0001)$	$0,9645 (P<0,0001)$	$0,9982 (P<0,0001)$

Para os quatro metais estudados, o declive e a ordenada na origem são estatisticamente diferentes de 1 e de 0, respectivamente. É, então, possível concluir que a quantidade de catião metálico extraída depende do protocolo experimental utilizado.

Da observação da Figura II.3.15, é possível distinguir-se duas fases diferentes: uma primeira fase correspondente a tempos de extracção curtos, para a qual a quantidade de metal extraído com o protocolo II é maior, e uma segunda fase, para tempos de extracção mais elevados, para a qual o protocolo I extrai maiores quantidades do que o protocolo II. No caso do Cu, do Cd e do Pb, a primeira fase corresponde a tempos de extracção inferiores ou iguais a uma hora enquanto que no caso do Fe, a primeira fase prolonga-se até tempos de 5 horas.

A explicação para este comportamento encontra-se no tipo de agitação da mistura sedimento/EDTA. Efectivamente, no protocolo I utiliza-se um frasco de um litro para agitar uma mistura de 60 g de sedimento e 400 mL de EDTA enquanto que no protocolo II, utilizam-se frascos de 60 mL para agitar misturas de 6 g de sedimento e 40 mL de EDTA. Ter-se-á, portanto, uma agitação mais intensa no caso do protocolo II. Por outro lado, quanto maior for a intensidade da agitação, maior será a passagem dos metais do sedimento para a solução de extracção, pelo que, nos primeiros tempos de extracção, o protocolo II extrai maiores quantidades de metais do que o protocolo I. No entanto, para tempos de extracção maiores, no caso do protocolo I, o volume de mistura sedimento/EDTA é já muito menor devido às várias alíquotas que se foram retirando. No fim da experiência foram retiradas, no total, 13 alíquotas de 20 mL. O volume de mistura fica, assim, reduzido a 140 mL, o que corresponde a 14 % da capacidade total do frasco. Desta forma, para tempos de extracção maiores, a eficiência da extracção no protocolo I é substancialmente aumentada e poderá, eventualmente, passar a ser superior à do protocolo II. É por esta razão que, com tempos de extracção elevados, o protocolo I extrai maiores quantidades de metal do que o protocolo II (Fangueiro *et al.*, 2002).

Como já foi referido nas secções precedentes, o pH é um parâmetro muito importante na extracção de metais vestigiais pelo EDTA sendo necessário minimizar as suas variações. Na Figura II.3.16 estão representadas as curvas de variação do pH em função do tempo de extracção, obtidas no caso dos protocolos I e II (quatro réplicas para cada protocolo). Pode observar-se duas zonas distintas: uma primeira para tempos de extracção inferiores a uma hora, onde as variações de pH ocorridas no caso do protocolo II são menores do que no caso do protocolo I, e uma segunda fase para tempos maiores, onde as variações de pH são idênticas com os dois protocolos. Contudo, a variação máxima não ultrapassa uma unidade de pH, pelo que se pode concluir que o protocolo experimental tem muito pouca influência sobre a variação de pH durante a extracção.

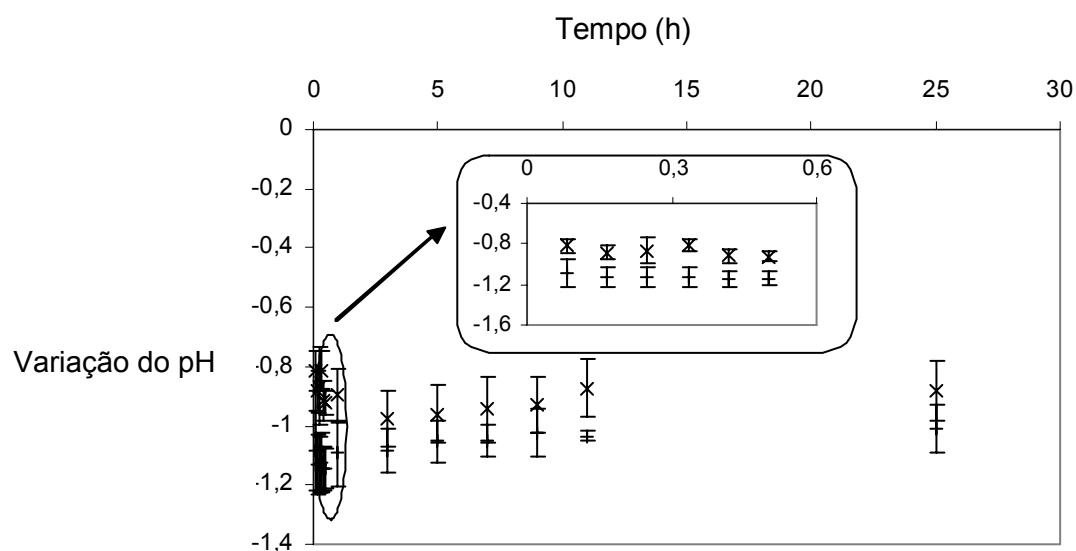


Figura II.3.16: Variação do pH durante a extracção com o EDTA usando os protocolos I e II. Estão representadas a média de 4 réplicas e o desvio padrão respectivo. +: protocolo I ; x: protocolo II

II.3.4. Conclusão

Os resultados apresentados neste capítulo permitiram determinar as melhores condições experimentais e estabelecer um protocolo de extracção óptimo para a realização de um fraccionamento cinético de metais vestigiais em sedimentos.

Primeiro, as condições experimentais para realização de um fraccionamento cinético do cobre, do cádmio e do chumbo em sedimentos por extracção com o EDTA, foram optimizadas, tendo-se definido as seguintes condições de extracção óptimas:

$$[\text{EDTA}] = 0,05 \text{ M}$$

$$\text{razão m/V} = 0,15 \text{ kg.L}^{-1}$$

$$\text{pH inicial} = 6,0$$

Comparou-se, depois, dois protocolos de extracção que diferem principalmente pela intensidade com a qual a mistura sedimento/EDTA é agitada. O processo de agitação parece, portanto, ser um factor com grande impacto sobre as quantidades de metais extraídos. Recentemente, *Vandevivere et al. (2001)* referiram a importância da intensidade da agitação sobre a velocidade e a extensão da extracção de metais em sedimentos. No caso do protocolo I, variações na intensidade da agitação têm influência sobre as quantidades de metais extraídos. O protocolo II permite eliminar completamente este problema e tem, ainda, a vantagem de induzir menor variabilidade nos resultados experimentais. O protocolo II é, portanto, recomendado para todos os estudos cinéticos da extracção de metais em sedimentos. Todo o trabalho de fraccionamento de metais em sedimentos apresentado no próximo capítulos foi realizado usando este protocolo.

II.4. Estudo da cinética de extracção pelo EDTA de metais vestigiais em sedimentos estuarinos: aplicação e comparação de equações e modelos cinéticos

II.4.1. Introdução

O estudo do fraccionamento de metais presentes em concentrações vestigiais em sedimentos é um dos principais objectivos deste trabalho. Neste capítulo, serão apresentados os resultados obtidos no estudo da cinética de extracção pelo EDTA de metais vestigiais em sedimentos, método escolhido no presente trabalho para determinar o fraccionamento dos metais vestigiais.

Em primeiro lugar, as curvas de extracção obtidas no caso do cobre, do cádmio e do chumbo em vários sedimentos foram descritas e analisadas em termos da velocidade de extracção pelo EDTA. Posteriormente, procedeu-se ao ajuste das curvas de extracção com duas equações cinéticas, a *equação de duas constantes* e a *equação de Elorich*, e com dois modelos cinéticos, o *modelo da difusão* e o *modelo de duas reacções de primeira ordem*. Foi, assim, possível determinar quais destas equações e destes modelos são mais eficientes para ajustar as curvas de extracção do Cu, Cd e Pb presente nos sedimentos.

A cinética global da extracção de metais pelo EDTA depende, por um lado, da cinética da reacção entre o EDTA e os metais, e, por outro lado, do transporte de massa, ou seja, da

difusão do complexo (Metal/EDTA). No presente estudo considerou-se que o mais lento destes dois processos determinará a velocidade global da extracção. A comparação dos resultados obtidos com os dois modelos cinéticos permitirá estimar qual destes dois processos é predominante nos casos estudados

Os resultados obtidos com o modelo das duas reacções de primeira ordem foram, ainda, interpretados em detalhe de modo a estabelecer possíveis correlações entre a quantidade de cobre, cádmio e chumbo presente em cada fracção determinada com este modelo e a constituição do próprio sedimento.

Todo este trabalho foi realizado com 3 sedimentos (sedimento 1C, 4B e 4C) escolhidos pelo facto de terem quantidades de matéria orgânica e concentrações de metais (Cu, Cd, Pb, Fe) muito diferentes.

II.4.2. Descrição e análise das curvas de extracção pelo EDTA do cobre, cádmio e chumbo no sedimento

O protocolo experimental usado neste trabalho foi o protocolo II descrito na secção II.3.3.1. Em primeiro lugar, foram realizadas 4 réplicas de curvas de extracção para cada metal e cada sedimento estudados de modo a avaliar a variabilidade dos resultados obtidos com este protocolo de extracção.

Na Tabela II.4.1, apresentam-se os valores máximos, mínimos e médios do desvio padrão relativo obtidos para os vários metais e sedimentos estudados. Os valores médios foram calculados da seguinte forma: para cada um dos 13 tempos de extracção, determinou-se o valor médio dos desvios padrão relativos das 4 réplicas realizadas e calculou-se posteriormente a média destes 13 valores.

Como se pode verificar, o valor máximo de desvio padrão relativo obtido foi 21,6 % (chumbo - Sedimento 4C). No entanto, os valores médios têm todos valores inferiores a 13 %. Note-se que existem grandes diferenças nos valores obtidos entre sedimentos e entre metais, nomeadamente no caso do sedimento 4C, sedimento com o qual se registaram os maiores valores de desvio padrão relativo, independentemente do metal considerado. A variabilidade dos resultados depende, portanto, não só do protocolo experimental usado, mas também, do sedimento e do metal considerado.

Tabela II.4.1: Desvio padrão relativo (%) associado às curvas de extracção pelo EDTA do Pb, Cd e Cu nos sedimentos 1C, 4B e 4C (4 réplicas). Os valores apresentados são o valor médio e, entre parênteses, o valor mínimo e o valor máximo.

Metal	Sedimento 1C	Sedimento 4C	Sedimento 4B
Pb	2,2 (1,0 - 3,3)	10,9 (1,87 - 21,6)	3,1 (0,8 - 11,7)
Cd	4,4 (2,8 - 7,4)	6,7 (2,4 - 12,3)	4,3 (3,7 - 8,9)
Cu	7,2 (5,2 - 9,7)	12,5 (8,3 - 19,5)	3,8 (0,9 - 12,8)

Na Figura II.4.1 estão representadas as curvas de extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb nos sedimentos 1C e 4C. Os valores apresentados nesta Figura são a média e o desvio padrão de 4 réplicas. Importa recordar que o sedimento 1C tem níveis de concentração em metais e em matéria orgânica elevados, enquanto que o sedimento 4C apresenta níveis mais baixos.

De um modo geral, as curvas de extracção apresentam todas a mesma tendência: a quantidade de metal extraído aumenta com o tempo de extracção até atingir um patamar para os tempos maiores. Contudo, é possível distinguir, nestas curvas, duas zonas bem distintas. Uma primeira, para tempos de extracção curtos, inferiores a 0,5 horas, na qual a quantidade de metal extraído pelo EDTA aumenta muito rapidamente. Esta primeira fracção deverá corresponder a metais rapidamente extraídos do sedimento pelo EDTA. Assim, estes metais deverão estar presentes sob a forma de espécies químicas que são facilmente extraídas pelo EDTA, nomeadamente, a fracção de metais solúveis ou moderadamente adsorvidos no sedimento (Jones e Turki, 1997; Rauret, 1998).

Distingue-se, ainda, uma segunda região para tempos de extracção entre 0,5 e 24 horas, na qual a quantidade de metais extraídos aumenta mais lentamente. Esta segunda fracção de metais, extraída pelo EDTA de forma mais lenta, deverá estar presente no sedimento sob forma de espécies químicas, nomeadamente complexos, que necessitam de mais tempo para se dissociarem e libertar os metais que são depois complexados pelo EDTA. Este tipo de curvas de extracção, compostas por duas fases bem distintas, foi já observado em vários estudos de remobilização e extracção de metais em sedimentos (Bordas e Bourg, 1998; Chen et al., 1998; Yu e Klarup, 1994).

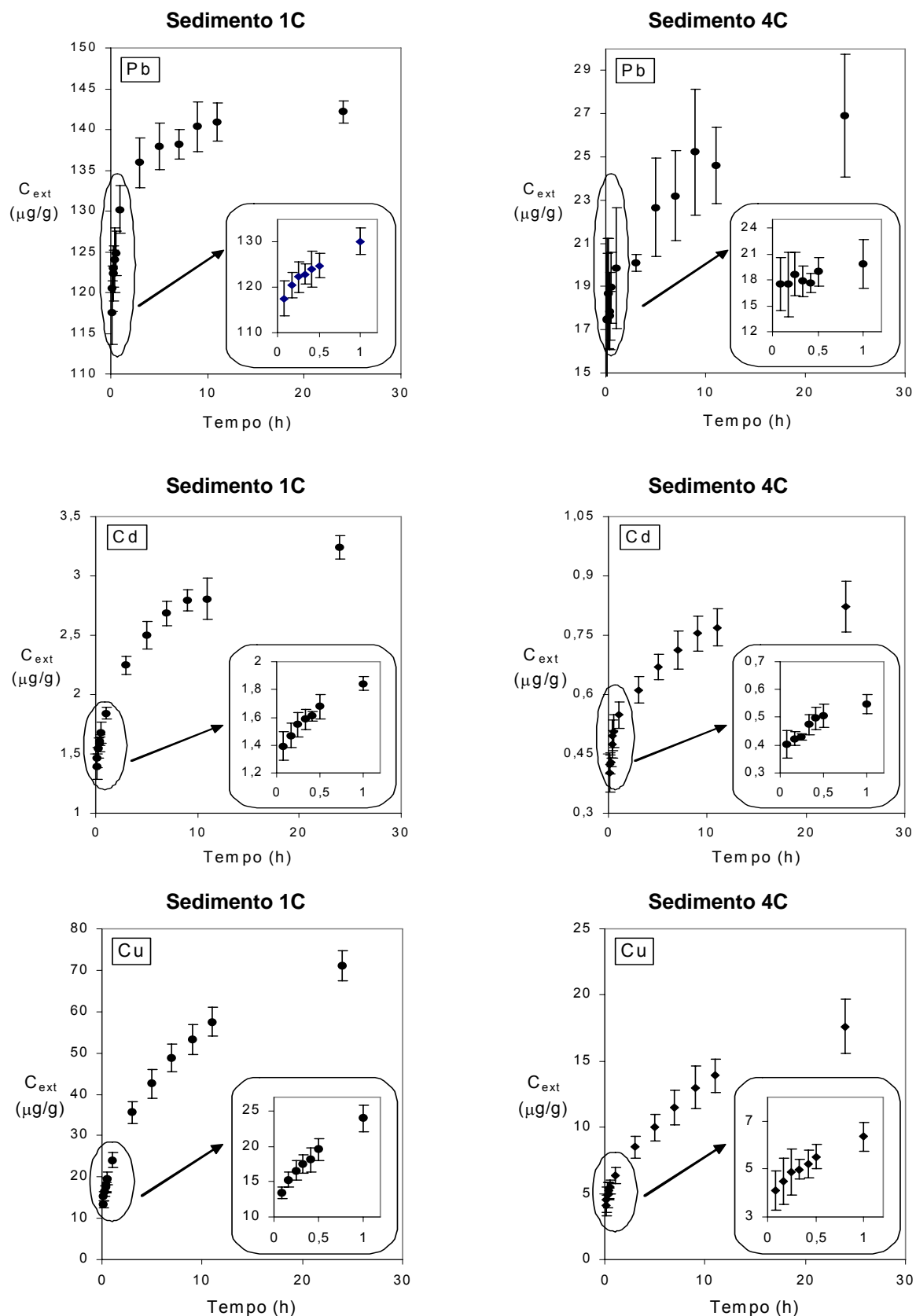


Figura II.4.1: Curvas de extração pelo EDTA (0,05 M; pH= 6,0) do Cu, Cd e Pb nos sedimentos 1C e 4C; valores médios de 4 réplicas e desvios padrão respectivos.

Os metais rapidamente extraídos pelo EDTA poderão ser considerados como os metais que irão migrar com mais facilidade para a coluna de água. Assim, esta fracção poderá ser considerada como a mais nociva para o meio ambiente devido ao risco potencial de vir a contaminar a cadeia animal e vegetal. Por essa razão, as quantidades de metais extraídas na primeira hora foram analisadas mais em detalhe.

Na Tabela II.4.2 apresentam-se as percentagens de metal extraído pelo EDTA, após uma hora de extracção, no caso dos 3 sedimentos aqui estudados. As percentagens são calculadas relativamente à quantidade total extraída pelo EDTA ao fim de 24 horas de extracção. Além dos 3 metais vestigiais considerados neste estudo (Cu, Cd e Pb), são, também, apresentados os resultados obtidos no caso do Fe.

Como é possível verificar, para os 3 sedimentos considerados, são extraídos mais de 55 % do cádmio e mais de 70 % do chumbo na primeira hora. No caso do cobre, estes valores foram de cerca de 35 % nos sedimentos 1C e 4C e 61% no sedimento 4B.

Tabela II.4.2: Percentagem de metal extraído pelo EDTA após uma hora de extracção

	Sedimento 1C	Sedimento 4B	Sedimento 4C
Pb	91,6 %	74,5 %	73,7 %
Cu	33,7 %	60,9 %	35,9 %
Cd	56,9 %	91,3 %	66,0 %
Fe	58,2 %	49,2 %	37,4 %

Consequentemente, é possível dizer que o cobre é, dos três metais aqui estudados, o mais lentamente extraído pelo EDTA (estas diferenças poderão ser explicadas pela diversidade das ligações estabelecidas por cada um destes três metais com o sedimento). Logo, é possível concluir que o cobre estabelece ligações menos lábeis com os ligandos do sedimento do que o chumbo ou o cádmio. Segundo *Fan et al. (2002)*, o cobre forma, com grande facilidade, complexos estáveis com a matéria orgânica presente no sedimento, enquanto que o chumbo encontra-se maioritariamente ligado aos óxidos de ferro e manganês, assim como aos carbonatos. Por outro lado, o cobre e o cádmio podem, também, ser complexados pelos carbonatos (*Davis, 1984*). Esta conclusão está, também, de acordo com os resultados obtidos na secção II.3.2.4.1 em que foram apresentadas as extracções destes 3 metais com HNO₃.

Verificou-se que a extracção do cobre exige a utilização de concentrações em H^+ muito superiores às que podem ser utilizadas no caso do cádmio, o que indica que o cobre estabelece, com o sedimento, ligações menos lábeis do que o cádmio.

As quantidades de metal extraído na primeira hora dependem ainda do sedimento considerado. Como é possível verificar na Tabela II.2.1, os sedimentos utilizados têm composições muito diferentes, nomeadamente em termos de concentração de matéria orgânica e de ferro. Os resultados obtidos, com o sedimento 4B no caso do cobre e do cádmio, são muito próximos dos resultados obtidos por *Bordas (1998)* num estudo da cinética de extracção do Cu, Cd e Pb com EDTA (0,01 M) em sedimentos com quantidades de Fe e de matéria orgânica idênticas às encontradas no sedimento 4B. Nota-se, ainda, que as quantidades de chumbo extraídas pelo EDTA na primeira hora são similares nos sedimentos 4B e 4C (~74%) mas inferiores à quantidade extraída no sedimento 1C, no qual mais de 90% do chumbo é extraído na primeira hora. Da mesma forma, as quantidades de cobre e de cádmio extraídas nos sedimentos 1C e 4C, na primeira hora, são inferiores as quantidades de cobre e cádmio extraídas do sedimento 4B.

Estes primeiros resultados permitem concluir que a extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb nos sedimentos considerados depende do próprio metal estudado e da constituição do sedimento, nomeadamente da concentração de ligandos orgânicos e óxidos de Fe e Mn presentes.

II.4.3. Ajuste das curvas de extracção com a equação de duas constantes e a equação de Elovich

A *equação de duas constantes* e a *equação de Elovich* foram utilizadas para ajustar as curvas cinéticas de extracção do Cu, Cd e Pb pelo EDTA, obtidas com 3 sedimentos diferentes. Os critérios usados para determinar a equação mais eficiente no ajuste das curvas de extracção foram a ocorrência de valores relativamente elevados do coeficiente de correlação r , associados a valores de P baixos e valores de erro padrão (SE) baixos. O valor de P corresponde à probabilidade da hipótese da existência de uma associação entre duas variáveis estar errada. Logo, quanto menor for o valor de P (valores geralmente inferiores a 0,05), maior será a probabilidade de existir uma associação entre as duas variáveis. O erro padrão foi calculado usando a seguinte equação:

$$SE = \left[\sum (q-q')^2 / (N - 2) \right]^{0,5} \quad (\text{II.4.1})$$

em que q é o valor experimental da concentração de metal extraído ao longo do tempo t , q' é o valor, ajustado com a equação, da concentração de metal extraído ao longo do tempo t e N é o número de pontos da curva de extracção

Refira-se que estes mesmos critérios foram utilizados por vários autores (*Chien e Clayton, 1980; Dang et al., 1994; Havlin et al., 1985*).

Em primeiro lugar, serão apresentados e analisados os resultados obtidos com cada uma destas equações para os 3 metais e os 3 sedimentos considerados. Posteriormente, estes resultados serão comparados de forma a avaliar qual das duas equações é mais eficiente para descrever a extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb nos 3 sedimentos estudados.

II.4.3.1. A equação de duas constantes

A expressão da *equação de duas constantes* utilizada neste trabalho foi a seguinte:

$$C = A \times t^B \quad (\text{II.4.2})$$

onde C é a concentração de metal extraído ($\mu\text{g/g}$), A e B são duas constantes e t é o tempo (h).

O valor destas duas constantes foi determinado por regressão linear, com o programa informático “*Sigma Plot*” (*Raichu, 2001*), para cada metal e cada sedimento usando o conjunto de dados obtidos nas 4 réplicas realizadas. Na Tabela II.4.3 estão apresentados os valores destas duas constantes associados à extracção de cada metal em cada sedimento. Nesta Tabela encontra-se também o valor do coeficiente de correlação r associado a cada caso estudado e o valor da concentração de metal extraído pelo EDTA ao fim de uma hora. O valor de P associado foi sempre inferior a 10^{-4} .

O significado físico das duas constantes A e B é pouco claro. No entanto, note-se que a constante A corresponde à quantidade de metal extraído quando $t = 1$, ou seja, ao fim de uma hora. Como é possível verificar na Tabela II.4.3, o valor da constante A obtido nos vários casos estudados é sempre muito próximo do valor da concentração de metal extraído ao fim de uma hora.

O coeficiente de correlação r determinado nos vários casos aqui estudados tem um valor médio de 0,9484. É de notar que os valores de r obtidos no caso do sedimento 1C, o sedimento com maiores níveis de concentração em metais, são em média mais elevados do que os valores obtidos com os outros sedimentos. Existem, ainda, diferenças entre os metais aqui considerados; os valores de r obtidos no caso do cobre são em média sempre superiores aos valores obtidos nos outros casos. Logo, é possível concluir que a equação de duas constantes é mais eficaz para ajustar as curvas de extracção do cobre do que as curvas de extracção do cádmio ou do chumbo, e o ajuste das curvas de extracção com esta equação é mais eficiente nos casos em que temos concentrações em metais elevadas.

Vários autores (Jopony e Young, 1987; Yu e Klarup, 1994) utilizaram esta equação em estudos de extracção do cobre em solos e sedimentos onde observaram a sua grande eficiência no ajuste das curvas de extracção.

Em conclusão, a equação de duas constantes permite um bom ajuste das curvas de extracção do Cu, Cd e Pb nos sedimentos estudados e, em particular, no caso do cobre.

Tabela II.4.3: Parâmetros obtidos no ajuste das curvas de extracção com a equação de duas constantes: valores das constantes A e B (4 réplicas) e do coeficiente de correlação r . O valor de P é sempre inferior a 10^{-4} . Está também apresentado o valor da concentração de metal extraído ao fim de uma hora.

Sedimento	Parâmetro	Pb	Cu	Cd
Sedimento 1C	A	128	25,5	1,91
	B	$3,6 \times 10^{-2}$	32×10^{-2}	16×10^{-2}
	r	0,9523	0,9915	0,9873
	$C_{ext(t=1h)} (\mu g, g^{-1})$	130 ± 3	$24,0 \pm 1,8$	$1,84 \pm 0,05$
Sedimento 4B	A	19,6	9,02	0,811
	B	$8,0 \times 10^{-2}$	16×10^{-2}	$4,7 \times 10^{-2}$
	r	0,9888	0,9946	0,8783
	$C_{ext(t=1h)} (\mu g, g^{-1})$	$19,3 \pm 0,2$	$8,86 \pm 0,15$	$0,812 \pm 0,002$
Sedimento 4C	A	20,0	6,73	0,546
	B	$8,4 \times 10^{-2}$	29×10^{-2}	13×10^{-2}
	r	0,8108	0,9682	0,9638
	$C_{ext(t=1h)} (\mu g, g^{-1})$	$19,9 \pm 2,8$	$6,34 \pm 0,61$	$0,548 \pm 0,034$

II.4.3.2. A equação de Elovich

A expressão da *equação de Elovich* utilizada neste trabalho foi a seguinte:

$$C = 1/b \ln(ab) + 1/b \ln(t) \quad (\text{II.4.3})$$

onde C é a concentração ($\mu\text{g/g}$) do catião metálico extraído ao tempo t (h) e a e b são duas constantes.

Os valores das constantes a e b foram determinados por regressão linear para cada metal e cada sedimento usando o conjunto de dados obtidos nas 4 réplicas realizadas. O valor de P associado a cada determinação foi sempre inferior a 10^{-4} .

Na Tabela II.4.4 estão representados os valores das constantes a e b determinados para cada metal em cada sedimento, assim como os valores do coeficiente de correlação r .

Tal como no caso da equação de duas constantes, o significado físico das duas constantes a e b é pouco claro. Vários autores (*Chien e Clayton, 1980; Sharpley, 1983*) tentaram definir o significado destas duas constantes, mas os resultados obtidos foram sempre muito pouco esclarecedores.

O coeficiente de correlação determinado nos vários casos aqui estudados tem um valor médio de 0,8536. É de salientar que os valores de r obtidos no caso do sedimento 1C (sedimento com maiores concentrações em metais) são, em média, mais elevados do que os valores obtidos com os outros sedimentos, mas não existem diferenças significativas entre os valores de r obtidos para cada metal.

Uma das aproximações matemáticas necessárias para obter a equação de Elovich impõe que $abt \gg 1$. É, portanto, necessário verificar se esta condição é respeitada em cada um dos casos aqui considerados. No caso do cobre e do chumbo, o produto abt é sempre superior a 1 em qualquer dos sedimentos considerados. No entanto, no caso do cádmio, esta aproximação só se verifica no caso do sedimento 1C para tempos de extracção superiores a 3 horas.

Tabela II.4.4: Parâmetros obtidos no ajuste das curvas de extração com o modelo de Elovich: valores das constantes a e b (4 réplicas) e do coeficientes de correlação r . O valor de P é sempre inferior a 10^{-4} .

Sedimento	Parâmetro	Pb	Cu	Cd
Sedimento 1C	a	4,93	9,96	0,335
	b	129	31,0	2,03
	r	0,9532	0,9654	0,9802
Sedimento 4B	a	1,55	1,55	$2,07 \times 10^{-2}$
	b	19,9	9,14	0,820
	r	0,9623	0,9869	0,7437
Sedimento 4C	a	1,69	2,18	$7,74 \times 10^{-2}$
	b	20,2	7,90	$5,61 \times 10^{-1}$
	r	0,8001	0,9332	0,9558

É, ainda, de referir que o valor das constantes a e b depende das quantidades extraídas: quanto maior forem as quantidades extraídas maior será o valor destas duas constantes. Logo, a equação de Elovich só deverá ser utilizada quando são extraídas quantidades relativamente elevadas de metal, de forma a satisfazer a condição $abt \gg 1$.

Em conclusão, a equação de Elovich permite ajustar eficientemente as curvas de extração pelo EDTA do cobre e do chumbo nos sedimentos estudados. Os resultados obtidos no caso do cádmio deverão ser considerados separadamente visto não se verificar uma das condições impostas.

II.4.3.3. Comparação dos resultados obtidos com as duas equações

Foram comparados os resultados obtidos no ajuste das curvas de extração pela *equação de duas constantes* e pela *equação de Elovich* tendo em consideração os valores do coeficiente de correlação r e do erro padrão SE obtidos com ambas equações.

A Figura II.4.2 apresenta as curvas de extração do Cu, Cd e Pb no sedimento 1C obtidas experimentalmente e as curvas ajustadas com a equação de Elovich e com a equação de duas constantes. Verifica-se que existe uma boa correlação entre a curva experimental e a curva ajustada para os três metais no sedimento 1C quando é utilizada a equação de duas constantes.

No entanto, no caso da equação de Elovich a correlação entre os dados experimentais e ajustados não é tão perfeita como no caso da equação de duas constantes.

Na Tabela II.4.5 estão apresentados os valores do erro padrão SE determinado com cada equação para os 3 metais estudados nos 3 sedimentos.

Como é possível verificar, o valor do erro padrão associado a equação de Elovich é sempre muito próximo do valor de SE associado a equação de duas constantes. No entanto, apesar do valor de P ser sempre inferior a 10^{-4} com ambas equações, o coeficiente de correlação obtido com a equação de duas constantes tem um valor médio igual a 0,9484 enquanto que o valor médio obtido com a equação de Elovich é igual a 0,9201. Estes resultados permitem, portanto, concluir que a equação de duas constantes é mais eficiente para ajustar as curvas de extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb nos sedimentos estudados. Deve-se, no entanto, referir que a utilidade destas equações cinéticas nunca foi demonstrada. Tendo em consideração que as constantes com elas determinadas não têm qualquer significado físico, estas equações poderão ser úteis apenas para prever a quantidade extraída de metal, para tempos não estudados experimentalmente. Assim, a sua utilidade continua a ser limitada e questionável.

Tabela II.4.5: Valores do erro padrão SE ($\mu\text{g.g}^{-1}$) determinado no caso da equação de duas constantes e da equação de Elovich.

Sedimento	Equação	Pb	Cu	Cd
Sedimento 1C	Elovich	1,11	5,13	$12,1 \times 10^{-3}$
	Duas constantes	2,77	2,45	$9,87 \times 10^{-2}$
Sedimento 4B	Elovich	0,75	0,31	$1,20 \times 10^{-2}$
	Duas constantes	0,44	0,29	$3,88 \times 10^{-2}$
Sedimento 4C	Elovich	0,80	0,93	0,96
	Duas constantes	0,81	0,97	0,96

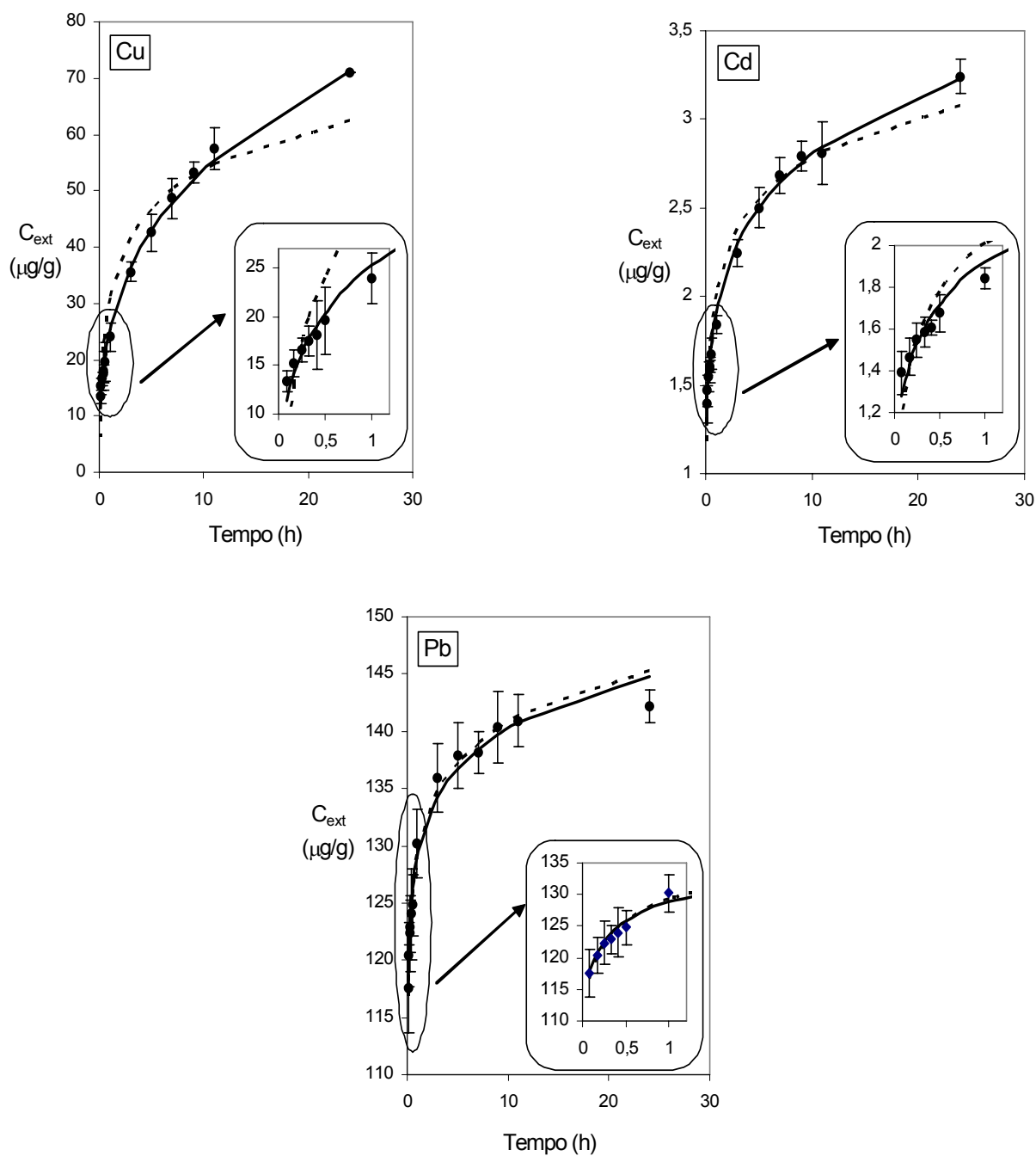


Figura II.4.2: Curvas experimentais de extração cinética pelo EDTA (0,05 M; pH=6,0) do Cu, Cd e Pb no sedimento 1C e ajuste pela equação de duas constantes (—) e pela equação de Elovich (-----).

II.4.4. Modelo da difusão

O *modelo da difusão* foi já apresentado e descrito em detalhes na secção II.1.4.2.1. Este modelo assume que o factor limitante da extracção é a difusão do complexo M/EDTA. A equação do modelo utilizada foi a seguinte:

$$\frac{ML_t}{ML_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^8 \frac{1}{n^2} \exp(-n^2 kt) \quad \text{com} \quad k = D\pi^2 / a^2 \quad (\text{II.4.4})$$

onde D é o coeficiente de difusão, a o raio da esfera, t o tempo, k uma constante, ML_t e ML_∞ a quantidade de complexo ML que difunde do interior para o exterior da partícula de sedimento ao tempo t e ao tempo infinito, respectivamente.

Esta equação não permite determinar directamente o coeficiente de difusão do complexo M/EDTA, mas sim o valor de $D\pi^2/a^2$, pelo que só será possível determinar o coeficiente de difusão se o valor de a for conhecido. Assim sendo, o modelo da difusão foi utilizado neste trabalho apenas para ajustar as curvas de extracção e verificar se a difusão do complexo M/EDTA é o factor limitante da extracção pelo EDTA do Cu, do Cd e do Pb nos sedimentos estudados.

Na Tabela II.4.6 estão apresentados os valores da constante k , do coeficiente de correlação r e do erro padrão SE , obtidos para o Cu, o Cd e o Pb nos 3 sedimentos estudados. O valor de P associado foi sempre inferior a 10^{-4} . Estes valores foram determinados por regressão não linear, com o programa informático “*Sigma Plot*” (Raichu, 2001), usando o conjunto de valores obtidos nas 4 réplicas realizadas.

A equação (II.4.4) utilizada neste trabalho é uma aproximação da equação (II.1.8) em que o desenvolvimento da série foi limitado a $n=8$. Como foi observado na secção I.1.4.2.1.2, para valores de n superiores a 8 e para $D/a^2 = 9 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$, o erro sobre o valor obtido devido à aproximação utilizada é sempre inferior a 1%. No entanto, esta aproximação poderá não ser válida para os valores D/a^2 obtidos no presente trabalho. Determinou-se, portanto, o valor do erro sobre o valor de ML_t/ML_∞ obtido com $n = 8$ para o valor máximo e para o valor mínimo de D/a^2 obtido neste trabalho. Como é possível verificar na Tabela II.4.7, a aproximação utilizada induz um erro máximo de 1% sobre o valor de ML_t/ML_∞ determinado para qualquer dos tempos considerados, quando se consideram os valores máximos e mínimos de D/a^2 aqui

determinados. Em conclusão, os resultados obtidos no presente trabalho verificam as condições necessárias à aplicação da equação do modelo da difusão escolhida (equação II.4.4).

Os valores de r apresentados na Tabela II.4.6 são, de uma forma geral muito baixos; o valor médio entre os 3 sedimentos e os 3 metais estudados é igual a 0,740. Por outro lado, o valor médio do erro padrão SE é bastante elevado nomeadamente no caso do sedimento 1C. Estes valores baixos de r em conjunto com valores elevados de SE permitem concluir que o modelo da difusão não é adequado para descrever a extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb nos sedimentos estudados em todo o intervalo de tempos considerado (0-24 horas).

Tabela II.4.6: Valores da constante $k = D\pi^2/a^2$ (h^{-1}), do coeficiente de correlação r e do erro padrão SE ($\mu\text{g.g}^{-1}$) determinados no caso do modelo da difusão. O valor de P é sempre inferior a 10^{-4} .

Sedimento	Parâmetro	Pb	Cu	Cd
Sedimento 1C	k	16,26	$10,31 \times 10^{-2}$	$13,04 \times 10^{-1}$
	r	0,5217	0,9789	0,8686
	SE	7,74	3,87	0,309
Sedimento 4B	k	4,827	1,355	11,95
	r	0,6618	0,9111	0,5140
	SE	2,23	1,16	$6,97 \times 10^{-2}$
Sedimento 4C	k	5,327	$13,06 \times 10^{-2}$	$19,31 \times 10^{-1}$
	r	0,4429	0,9224	0,8374
	SE	3,35	1,63	$7,67 \times 10^{-2}$

Tabela II.4.7: Erro do modelo da difusão associado ao valor de ML_t/ML_∞ determinado para vários valores de t com $n=8$ e os valores máximos e mínimos de D/a^2 aqui determinados.

t	Erro sobre o valor obtido com $n = 8$ e o valor máximo de D/a^2 determinado ($1,648 \text{ h}^{-1}$)	Erro sobre o valor obtido com $n = 8$ e o valor mínimo de D/a^2 determinado ($1,045 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$)
0	$\pm 1,02 \%$	$\pm 1,02 \%$
0,2	$\pm 0 \%$	$\pm 0,294 \%$
1	$\pm 0 \%$	$\pm 1,73 \times 10^{-3} \%$
5	$\pm 0 \%$	$\pm 0 \%$
10	$\pm 0 \%$	$\pm 0 \%$
24	$\pm 0 \%$	$\pm 0 \%$

Na Figura II.4.3, estão apresentadas as curvas experimentais de extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb no sedimento 4C assim como as curvas ajustadas com a equação (II.4.4) do modelo da difusão. As diferenças existentes entre os valores experimentais e os valores ajustados são neste caso bem significativas e vêm confirmar as conclusões anteriores.

Yu e Klarup (1994) utilizaram a equação (II.1.8) num estudo da extracção cinética de Cu, Zn, Fe e Mn em sedimentos contaminados com tempos de extracção mais curtos (0-10 horas). Constataram que esta equação do modelo da difusão permite um bom ajuste das curvas de extracção do Fe mas que a correlação entre os resultados experimentais e os resultados ajustados com o modelo é, no caso do Cu e do Zn, muito fraca.

É ainda de notar que a diferença entre os valores ajustados e os valores experimentais aumenta com o tempo de extracção. Por outro lado, verificou-se na secção II.4.2 que existe uma fracção de metal rapidamente extraída pelo EDTA, na primeira hora. Considerando estas observações, procedeu-se novamente ao ajuste das curvas de extracção do Cu, Cd e Pb com a equação (II.4.4) do modelo da difusão mas, desta vez, somente para tempos de extracção inferiores a uma hora. Como é possível verificar na Tabela II.4.8, os valores de SE obtidos neste caso são, na maioria, baixos, mas os valores de r são também baixos. No entanto, o valor de P é, na maioria dos casos, inferior a 0,05. Por outro lado, a Figura II.4.4 mostra que existe uma boa correlação entre os valores ajustados com a equação (II.4.4) e os valores experimentais para tempos de extracção inferiores a 1 hora no caso do sedimento 1C (resultados idênticos foram obtidos com os outros dois sedimentos).

Os resultados aqui descritos permitem chegar a conclusão que o modelo da difusão não descreve correctamente, no intervalo de tempo de [0-24] horas, a extracção pelo EDTA do Cu, do Cd e do Pb nos sedimentos estudados. Contudo, para tempos de extracção no intervalo [0-1] hora, este modelo apresenta bons resultados na maioria dos casos; as excepções são o chumbo no sedimento 4B e o cádmio no sedimento 4C. Consequentemente, é possível concluir que a difusão do complexo M/EDTA poderá ser, para tempos curtos ($t < 1$ hora), o factor limitante da extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb nos sedimentos estudados. Relembra-se, no entanto, que o facto do modelo da difusão ajustar eficientemente as curvas de extracção dos metais estudados para tempos curtos não é suficiente para se poder afirmar, com toda a certeza, que a extracção é, neste intervalo de tempo, controlada somente por difusão.

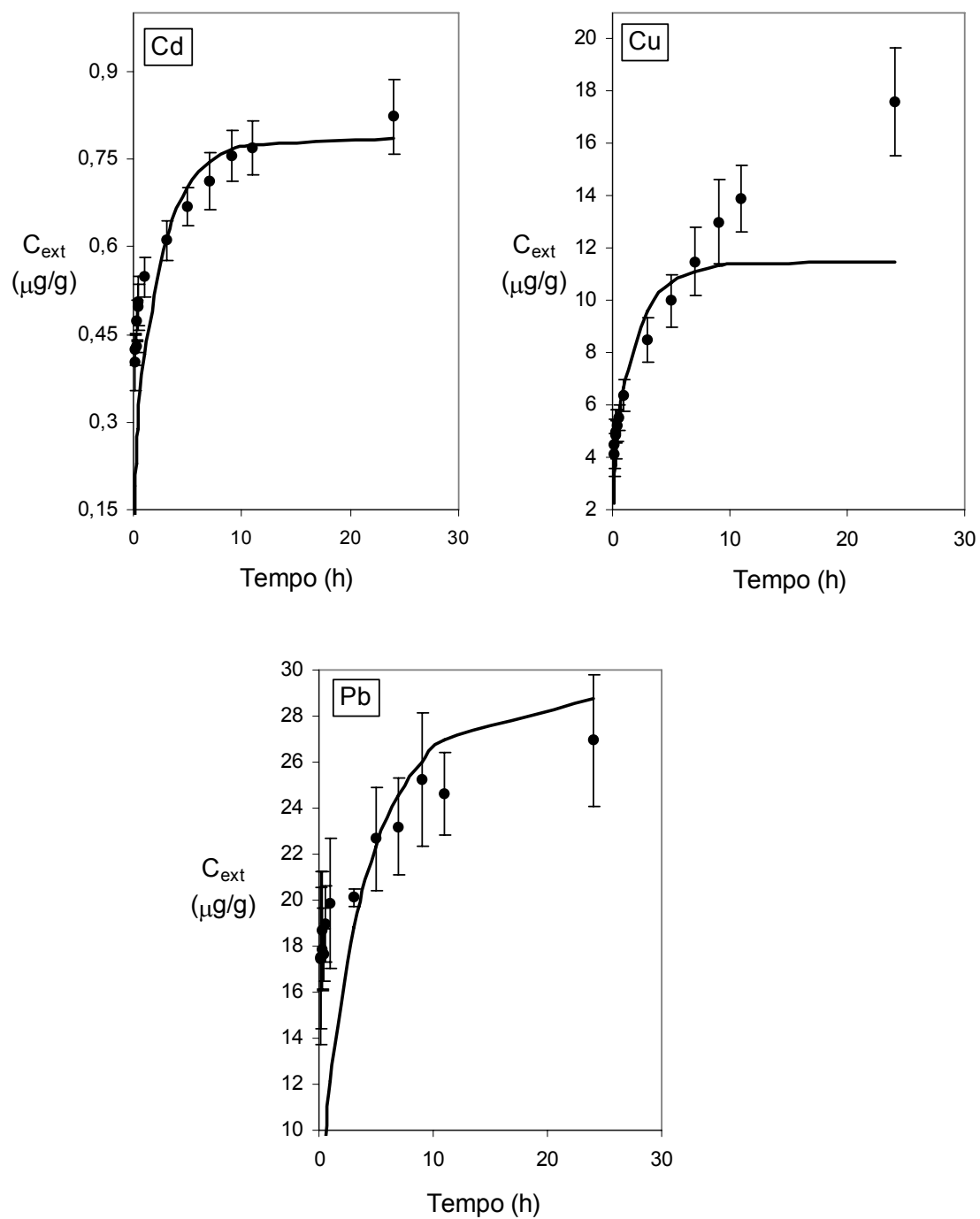


Figura II.4.3: Curvas experimentais de extração cinética pelo EDTA (0,05 M; pH=6,0) do Cu, Cd e Pb no sedimento 4C e ajuste pelo modelo da difusão.

Tabela II.4.8: Valores do coeficiente de correlação r , do erro padrão SE ($\mu\text{g.g}^{-1}$) e de P determinados no caso do modelo da difusão para tempos de extracção curtos ($t < 1$ hora)

Sedimento	Parâmetro	Pb	Cu	Cd
Sedimento 1C	r	0,5431	0,8532	0,6683
	SE ($\mu\text{g/g}$)	3,99	1,82	0,117
	P	0,0034	< 0,0001	0,0001
Sedimento 4B	r	0,7278	0,8699	0,3261
	SE ($\mu\text{g/g}$)	0,654	0,481	0,0382
	P	< 0,0001	<0,0001	0,1115
Sedimento 4C	r	0,1359	0,6292	0,6739
	SE ($\mu\text{g/g}$)	2,24	0,737	0,0438
	P	0,4903	0,0003	0,0002

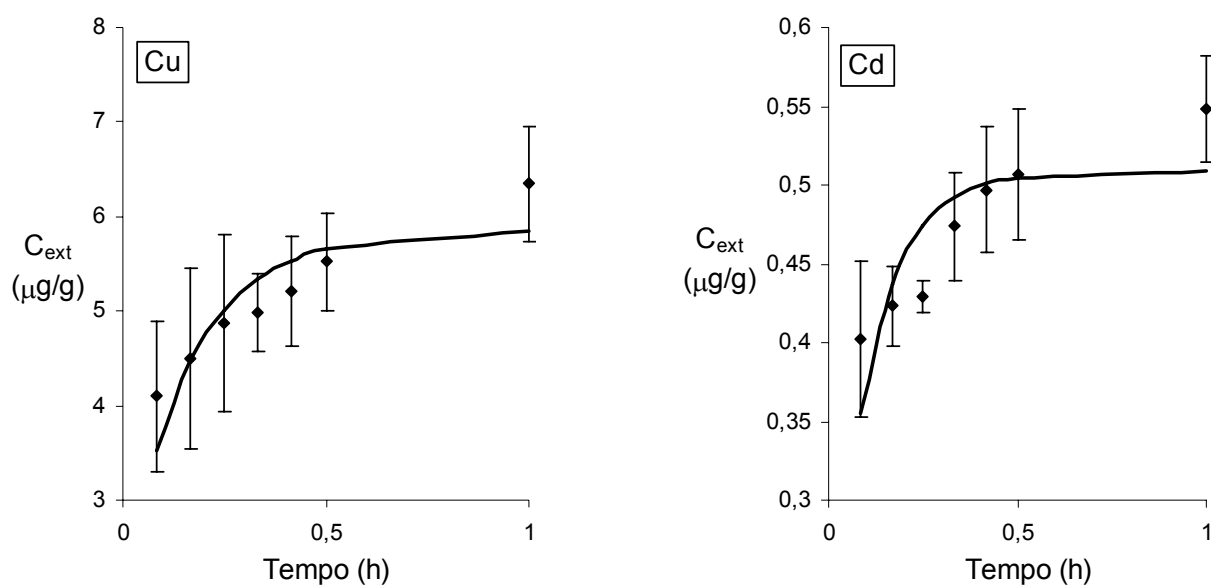


Figura II.4.4: Curvas experimentais de extracção cinética pelo EDTA (0,05 M; $\text{pH}=6,0$) do Cu, Cd no sedimento 4C e ajuste pelo modelo da difusão; tempos de extracção inferiores a uma hora (Nota: não se representou aqui o caso do chumbo devido à grande variabilidade dos resultados).

II.4.5. O modelo de duas reacções de primeira ordem

O *modelo de duas reacções de primeira ordem* foi descrito em detalhe na secção II.1.4.2.2.2. Neste modelo é assumido que o factor limitante da extracção é a cinética da reacção entre o agente de complexação, neste caso o EDTA, e o metal extraído.

A equação do modelo utilizada para ajustar as curvas de extracção foi a seguinte:

$$Q = Q_1^0 (1 - \exp(-k_1 t)) + Q_2^0 (1 - \exp(-k_2 t)) \quad (\text{II.4.5})$$

em que Q representa a quantidade de metal extraído (em micrograma de metal por grama de sedimento seco) e Q^0 representa as quantidades extraídas no equilíbrio. A unidade de tempo considerada é a hora.

O modelo de duas reacções de primeira ordem permite definir três fracções de metal extraído:

- i) Q_1^0 , a *fracção rapidamente extraída*, à qual corresponde a constante de velocidade k_1 ;
- ii) Q_2^0 , a *fracção lentamente extraída*, à qual corresponde a constante de velocidade k_2 ;
- iii) Q_3^0 , a *fracção de metal não extraído ou inerte*. O valor de Q_3^0 é obtido por diferença entre a concentração total de metais no sedimento e a concentração de metais extraída quando o estado de equilíbrio foi atingido (ver equação II.1.23).

Como foi visto na secção II.4.2, as curvas de extracção pelo EDTA do Cu, do Cd e do Pb, obtidas nestes estudos, apresentam duas zona distintas que devem corresponder a duas velocidades de extracção diferentes. Logo, o modelo de duas reacções de primeira ordem poderá ser adequado para descrever a extracção, pelo EDTA, destes 3 metais nos sedimentos.

Na Tabela II.4.9 apresentam-se os valores de Q^0 , Q_2^0 , do coeficiente de correlação r e do erro padrão SE obtidos no caso da extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb nos sedimentos 1C, 4C e 4B (Foi utilizado o conjunto de dados obtidos nas 4 réplicas realizadas). Estes valores foram determinados por regressão não linear, com o programa informático “*Sigma Plot*” (Raichu, 2001), usando o conjunto de valores obtidos nas 4 réplicas realizadas. O valor de P é sempre inferior a 10^{-4} .

Tabela II.4.9: Valores de Q_1 , Q_2 , do coeficiente de correlação r e do erro padrão SE obtidos com o modelo de duas reacções de primeira ordem para Cu, Cd e Pb nos sedimentos 1C, 4C e 4B. O valor de P é sempre inferior a 10^{-4} .

Sedimento	Parâmetro	Pb	Cu	Cd
Sedimento 1C	Q_1	119,6	15,88	1,512
	Q_2	20,78	57,50	1,686
	r	0,9544	0,9919	0,9865
	SE	2,77	2,45	0,104
Sedimento 4B	Q_1	17,69	7,217	0,7634
	Q_2	7,993	7,043	0,1782
	r	0,9842	0,9902	0,8639
	SE	0,539	0,403	0,0419
Sedimento 4C	Q_1	16,83	4,850	0,4572
	Q_2	7,955	13,63	0,3640
	r	0,9605	0,9962	0,9594
	SE	0,890	1,45	0,0405

Como se pode verificar, os valores de r são todos superiores a 0,950 excepto no caso do cádmio no sedimento 4B. Por outro lado, em todos os casos, os valores do erro padrão SE são muito baixos em comparação com os valores obtidos com o modelo da difusão.

Na Figura II.4.5 estão representadas as curvas de extracção obtidas para o Cu, Cd e Pb no sedimento 1C e os valores ajustados pelo modelo de duas reacções de primeira ordem. Verifica-se que existe uma boa correlação entre os valores experimentais e os valores ajustados determinados com este modelo para os 3 metais estudados.

Os resultados aqui apresentados permitem, portanto, concluir que o modelo de duas reacções de primeira ordem proporciona um bom ajuste das curvas de extracção pelo EDTA do Cu, do Cd e do Pb nos sedimentos estudados.

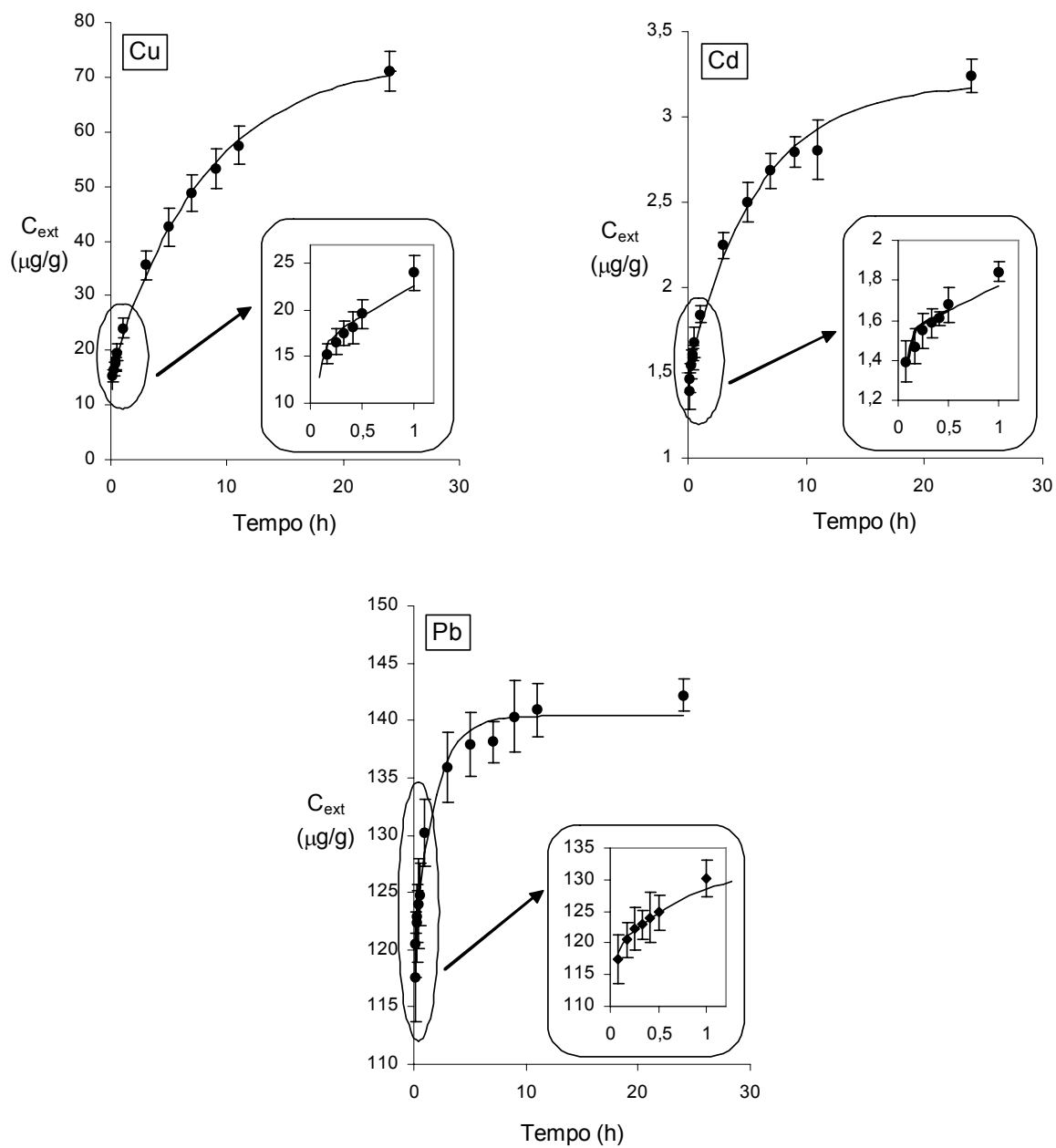


Figura II.4.5: Curvas experimentais de extração cinética pelo EDTA (0,05 M; pH=6,0) do Cu, Cd e Pb no sedimento 1C e ajuste pelo modelo de duas reações de primeira ordem.

Assim, segundo este modelo, os metais presentes nos sedimentos estudados estão repartidos em 3 fracções:

- i) uma primeira fracção de metais presentes sob formas químicas que proporcionam uma cinética de reacção com o EDTA muito rápida;
- ii) uma segunda fracção de metais presentes sob formas químicas que proporcionam uma cinética de reacção com o EDTA mais lenta;
- iii) uma última fracção de metais presentes sob formas químicas inertes ou que proporcionam uma cinética de reacção com o EDTA muito lenta (tempo reaccional superior a 24 horas).

É de salientar que, tal como no caso do modelo da difusão, o facto deste modelo ajustar eficientemente as curvas de extracção não é suficiente para afirmar que a extracção pelo EDTA de metais, nos sedimentos estudados, é controlada somente pela cinética da reacção de complexação dos metais pelo EDTA.

II.4.6. Análise dos resultados obtidos com o modelo de duas reacções de primeira ordem

Na secção anterior, verificou-se que o modelo de duas reacções de primeira ordem permite fraccionar os metais presentes no sedimento em 3 compartimentos. Será, agora, analisada a distribuição, nestes 3 compartimentos, do cobre, do cádmio e do chumbo, assim como a influência da quantidade total de matéria orgânica, de carbonato e de ferro sobre as quantidades de metal extraídas pelo EDTA e sobre a cinética da extracção.

Como já foi referido, o modelo de duas reacções de primeira ordem permite determinar três fracções de metal e quantificar cada fracção pelo valor de Q_n^o . No entanto, os valores brutos de Q_n^o são pouco adaptados para estudos comparativos em que estão envolvidos sedimentos com concentrações totais em metais diferentes. Consequentemente, na análise dos resultados obtidos com o modelo de duas reacções de primeira ordem é necessário utilizar as fracções de metais (rapidamente extraíveis, lentamente extraíveis, não extraíveis) relativas a quantidade total de metal. Foi, portanto, introduzido os parâmetros $F1$, $F2$ e $F3$ definidos por:

$$F1 = (Q_1^o \times 100 / Q_{tot}) \% \quad (II.4.6)$$

$$F2 = (Q_2^o \times 100 / Q_{tot}) \% \quad (II.4.7)$$

$$F3 = (Q_3^o \times 100 / Q_{tot}) \% \quad (II.4.8)$$

II.4.6.1. Distribuição do cobre, do cádmio e do chumbo entre as três fracções *F1*, *F2* e *F3*.

Na Figura II.4.6 está representada a distribuição nas 3 fracções *F1*, *F2* e *F3* do Cu, Cd e Pb nos sedimentos 1C, 4C e 4B. Nos 3 sedimentos estudados, o cobre reparte-se de maneira idêntica entre estas 3 fracções: $F3 > F2 \geq F1$ pelo que é possível concluir que o cobre é lentamente extraído pelo EDTA. Por outro lado, a fracção *F3* de metal não extraído pelo EDTA representa, nos sedimentos estudados, perto de 50 % do cobre total. Estes resultados mostram, assim, que as ligações entre o cobre e o sedimento são pouco lábeis, resultando numa extracção lenta por parte do EDTA.

No caso do chumbo, a fracção *F2* de metal é sempre menor do que as fracções *F1* e *F3*. A fracção *F3* representa entre 36 e 53 % do chumbo total. Assim, o chumbo é extraído pelo EDTA em maiores quantidades do que o cobre e a sua extracção pelo EDTA é relativamente rápida visto a fracção *F2* de metal ter um valor muito inferior a *F1* ou *F3*. Pode, então, concluir-se que a extracção do chumbo pelo EDTA é mais rápida do que a extracção do cobre. Por outro lado, é possível adiantar que as ligações entre o chumbo e o sedimento são mais lábeis do que as ligações entre o sedimento e o cobre. *Polyák e Hlavay (1999)* mostraram também que o cobre está mais fortemente ligado ao sedimento do que o chumbo.

O cádmio apresenta um comportamento idêntico nos sedimentos 1C e 4C nos quais a fracção *F3* é muito superior as fracções *F1* e *F2* mas no sedimento 4B, a fracção *F1* é muito maior do que as fracções *F2* e *F3*. Estes resultados não permitem, portanto, tirar qualquer conclusão quanto à velocidade de extracção do cádmio pelo EDTA nos sedimentos estudados. Contudo, é de notar que o cádmio é muitas vezes considerado como um metal facilmente extraível devido as baixas constantes de estabilidade e a grande labilidade dos complexos formados por este metal com vários ligandos naturais (*Alloway, 1999*). Assim, os resultados obtidos com o sedimento 4B podem ser considerados como os mais “comuns”.

Nos sedimentos estudados, a fracção *F1* de cobre rapidamente extraível é sempre inferior a fracção *F1* de cádmio ou de chumbo. Por outro lado, a fracção *F2* de cobre é sempre superior a fracção *F2* de cádmio ou de chumbo. Isto permite concluir que o cobre é dos metais estudados o mais lentamente extraído pelo EDTA.

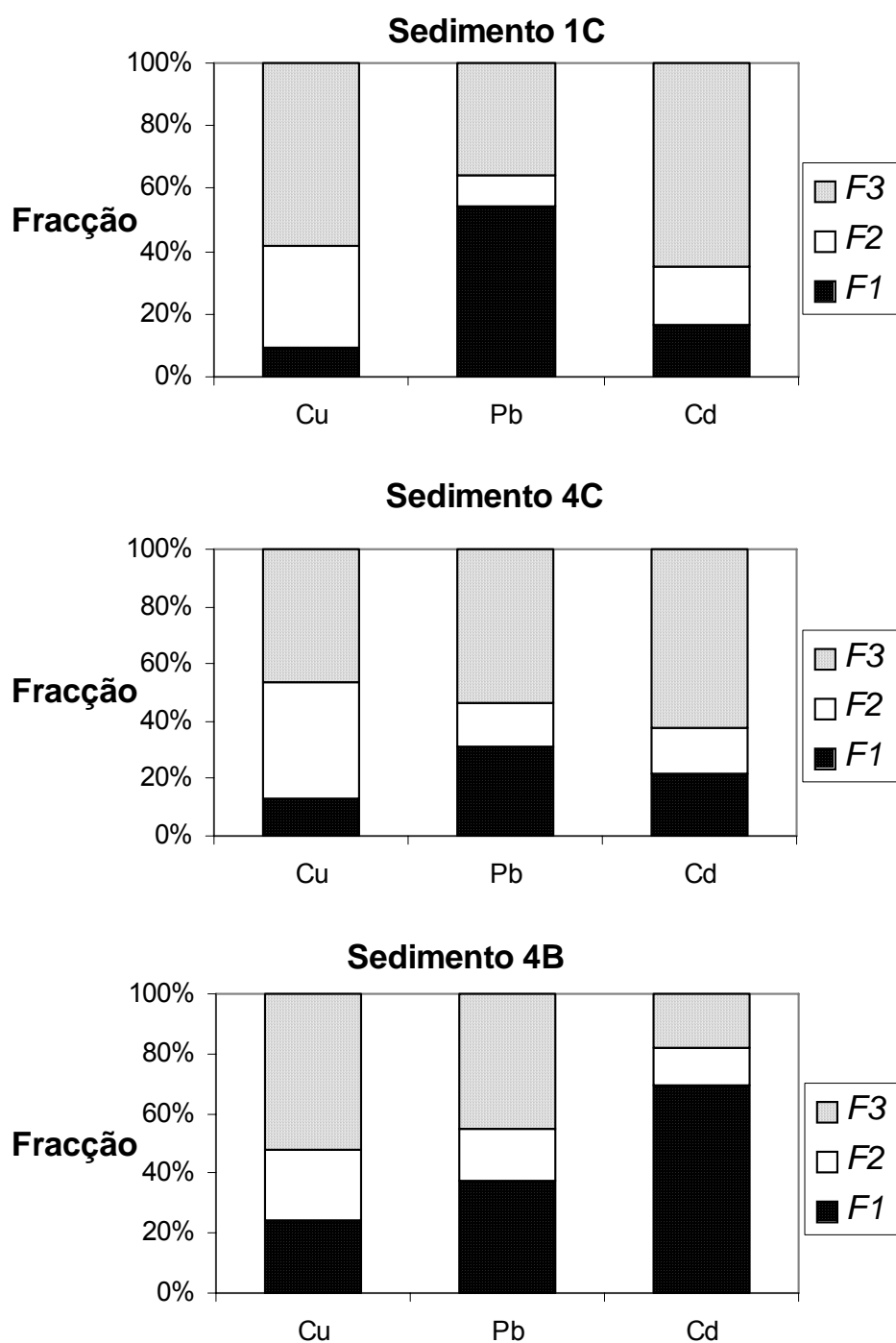


Figura II.4.6: Distribuição do cobre, cádmio e chumbo entre as frações F1, F2 e F3 nos sedimentos 1C, 4C e 4B.

II.4.6.2. Influência da composição do sedimento sobre a extracção do cobre e do chumbo pelo EDTA

A matéria orgânica, os carbonatos e os óxidos de ferro podem complexar ou adsorver os metais presentes no sedimento e, conseqüentemente, têm uma influência directa sobre a extracção destes metais por agentes de extracção tais como o EDTA. Uma vez que os sedimentos utilizados neste estudo têm composições muito diferentes, poderá ser possível estabelecer correlações entre a distribuição dos metais entre as fracções *F1*, *F2* e *F3* e as quantidades de matéria orgânica, ferro ou carbonato presentes no sedimento. Os resultados obtidos neste trabalho só permitem considerar os casos do cobre e do chumbo porque o ajuste, com o modelo de duas reacções de primeira ordem, dos dados experimentais obtidos no caso do cádmio com o sedimento 4B, apresenta um coeficiente de correlação *r* cujo valor é muito baixo (ver Tabela II.4.9).

Na Figura II.4.7 esta representada a distribuição do chumbo e do cobre entre as fracções *F1*, *F2* e *F3* nos 3 sedimentos aqui estudados. As concentrações relativas da matéria orgânica, de carbonato e de ferro presente em cada sedimento (relativas ao valor mais elevado de cada parâmetro) foram também incluídas nessa Figura.

a) Caso do chumbo

- i) Quando a quantidade de matéria orgânica diminui, a fracção *F3* aumenta e a fracção *F1* diminui. Logo, é possível concluir que existe uma correlação directa entre a fracção *F1* de chumbo e a quantidade de matéria orgânica. Por outro lado, a fracção *F3* que está inversamente correlacionada com a fracção *F1* também o estará com a quantidade de matéria orgânica.
- ii) As variações na fracção *F2* são idênticas às da quantidade de CO_3^- e opostas às da quantidade de ferro, apontando para uma correlação directa entre *F2* e a quantidade de CO_3^- .

Estes resultados mostram que, nos sedimentos considerados, o chumbo é rapidamente extraído do sedimento pelo EDTA quando os sedimentos são ricos em matéria orgânica e têm concentrações baixas em carbonato e ferro. Por outro lado, é possível assumir que a fracção *F1* é principalmente constituída por chumbo associado à matéria orgânica e que a fracção *F2* é

maioritariamente constituída por chumbo associado aos carbonatos. Como já foi referido, o chumbo é fortemente adsorvido pelos óxidos de Fe (*Fan et al., 2002*). Logo, será possível supor que o chumbo da fracção *F3* se encontra principalmente associado aos óxidos de ferro embora não tenha sido observada qualquer correlação entre a fracção *F3* e a quantidade de ferro.

b) Caso do cobre

- i) A fracção *F1* de cobre está directamente correlacionada com a quantidade de carbonato. Logo, presume-se que a fracção *F1* é maioritariamente composta por cobre associado ao carbonato. É ainda de referir que, como foi visto na secção II.4.4, no caso dos sedimentos 1C e 4C, a velocidade de extracção do cobre pelo EDTA poderá ser controlada pela difusão do complexo Cu/EDTA na primeira hora de extracção. Considerando que os metais da fracção *F1* são extraídos na primeira hora, estes resultados permitem emitir a hipótese da dissociação do complexo de carbonato e cobre ser suficientemente rápida para não ser o factor limitante da extracção.
- ii) As variações na fracção *F2* são análogas às da quantidade de ferro. Além disso, *F1* e *F2* estão inversamente correlacionadas. Em consequência, a fracção *F2* deverá ser composta, principalmente, por cobre associado aos óxidos de ferro.
- iii) Finalmente, a fracção *F3* está directamente correlacionada com a quantidade de matéria orgânica, o que leva a supor que esta fracção é maioritariamente composta por cobre associado à matéria orgânica. Esta conclusão é apoiada pelo facto deste tipo de ligação ser a mais frequentemente observada em sedimentos (*Fan et al., 2002*).

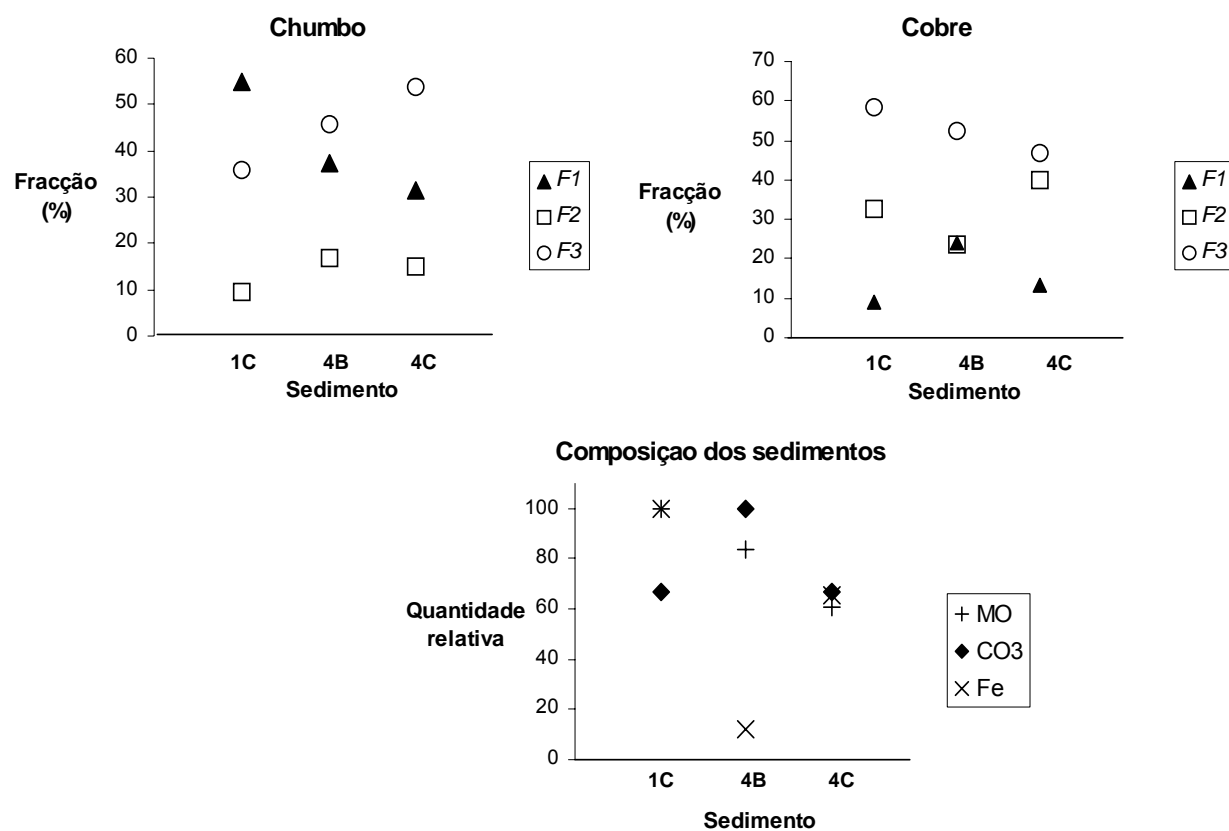


Figura II.4.7: Influência da matéria orgânica (MO), carbonato (CO₃) e ferro (Fe) sobre a extração do cobre e do chumbo pelo EDTA. As frações F_n são expressadas em % da quantidade total de metal. A percentagem de matéria orgânica, carbonato e ferro é expressa em relação a maior quantidade.

II.4.7. Conclusão

No presente trabalho provou-se que a cinética da extracção pelo EDTA do cobre, cádmio e chumbo presente nos sedimentos estudados é composta por duas etapas distintas: uma primeira na qual os metais são rapidamente extraídos e uma segunda onde a extracção é mais lenta.

Concluiu-se, ainda, que a velocidade de extracção dos metais depende dos próprios metais e também da composição do sedimento nomeadamente da quantidade de carbonato, de matéria orgânica e das concentrações totais de metais.

Mostrou-se que a equação de Elovich e a equação de duas constantes permitem obter um bom ajuste das curvas de extracção; a equação de duas constantes é contudo a mais eficaz para ajustar as curvas experimentais. No entanto, o significado físico das constantes determinadas com estas equações é muito pouco claro tornando a sua utilização muito empírica.

As curvas de extracção pelo EDTA do Cu, Cd e Pb foram ajustadas com o modelo da difusão e o modelo de duas reacções de primeira ordem. Os resultados obtidos mostram que a extracção do cobre, cádmio e chumbo pelo EDTA nos sedimentos estudados, é perfeitamente descrita pelo modelo de duas reacções de primeira ordem. Por outro lado, o modelo da difusão não descreve correctamente a extracção dos metais estudados, excepto em certos casos, na primeira hora de extracção. Foi assim possível sugerir que a velocidade de reacção entre o EDTA e o metal é o principal factor limitante da extracção.

Os resultados obtidos com o modelo de duas reacções de primeira ordem permitiram concluir que a distribuição dos metais entre as 3 fracções determinadas com o modelo de duas reacções de primeira ordem depende dos próprios metais e ainda da constituição do sedimento considerado. Nos sedimentos estudados, o cobre é o metal menos extraído pelo EDTA.

Considerando que os metais mais facilmente e rapidamente extraídos são os mais móveis no sedimento, o modelo de duas reacções de primeira ordem poderá permitir estimar a mobilidade dos metais nos sedimentos: Quanto maior for a concentração da fracção *F1*, mais móvel poderá ser considerado o metal. No entanto, esta interpretação continua a ter um carácter muito qualitativo e deve ser considerada com muitas precauções.

II.5. Referências

- AFNOR, **1996**, *Qualité des sols*. Recueil de normes françaises, Paris-La Défense.
- ALLOWAY B.J., **1990**, *Heavy metals in soils*. Alloway B.J, Glasgow.
- ALLOWAY B.J., **1999**, *Cadmium, Schwermetalle in Böden*. Alloway B.J, Berlin.
- ARIZA J.L.G., GIRALDEZ I., SANCHEZ-RODAS D., MORALES E., **2000**, Selectivity assessment of a sequential extraction procedure for metal mobility characterization using model phases. *Talanta*, 52, 545-554.
- BADRI M.A., ASTON S.R., **1981**, A comparative study of sequential extraction procedures in the geochemical fractionation of heavy metals in estuarine sediments. Conference on heavy metals in the environment, United Kingdom (Edinburgh), 705-708.
- BARONA A., ROMERO F., **1997**, Relationships among Metals in the Solid Phase of Soils and in Wild Plants. *Water Air and Soil Pollutions.*, 95, 59-74.
- BERMOND A., YOUSFI I., I., GHESTEM J.P., **1998**, Kinetic approach to the chemical speciation of trace metals in soils. *Analyst*, 123, 785-789.
- BORDAS F., BOURG A.C.M., **1998**, Effect of complexing agents (EDTA and ATMP) on the remobilization of heavy metals from a polluted river sediment. *Aquatic Geochemistry*, 4, 201-214.
- BORDAS F., **1998**, Remobilisation de micro-polluants métalliques à partir de Sédiments de rivière naturellement pollués en présence de complexants organiques synthétiques. Thèse, Université de Limoges.
- BORGGARD O.K., **1976**, The use of EDTA in soil analysis. *Acta Agrícola Scandinavia*, 26, 145-150.
- BORGGARD O.K., **1979**, Selective extraction of amorphous iron oxides by EDTA from a danish sandy loam. *Journal of Soil Science*, 30, 727-734.
- BOURG A.C.M., CROUZET C., BERTIN C., **1994**, Influence of EDTA on the mobility of trace metals in aquifers: illustration with column experiments on slightly contaminated solids from an alluvial aquifer. In *Transport and Reactive Processes in Aquifers*; Dacros & Stauffer, Rotterdam.
- BOURG A.C.M., LOCH J.P.G., **1995**, Mobilization of heavy metals as affected by pH and redox conditions. In *Biogeochemistry of pollutants in soils and sediments*; Salomons W., Stigliani W.M., Springer Verlag, Berlin.
- BUFFLAP S.E., ALLEN H.E., **1995**, Sediment pore water collection methods for trace metals analysis: A review. *Water Research*, 29, 165-177.
- CALACE N., De PAOLIS F., D'ORAZIO D., PETRONIO B.M., **1987**, Metal speciation in Arno river sediments. *Annali di Chimica*, 87, 743-751.
- CAMPANELLA L., D'ORAZIO D., PETRONIO B.M., PIETRANTONIO E., **1995**, Proposal for a metal speciation study in sediments. *Analytica Chimica Acta*, 309, 387-393.

- CHEN J.P., WANG L., **2004**, Characterization of metal adsorption kinetic properties in batch and fixed-bed reactors. *Chemosphere*, 54, 397-404.
- CHEN S.Y., LIOU C.N., LIN J.G., **1998**, The influence of nitrilotriacetic acid (NTA) on metal mobilization from a contaminated river sediment. *Water Science and Technology*, 37, 47-54.
- CHEN J.P., WU S., **2004**, Interactions between copper ions and humic acid on surfaces of an activated carbon. *Carbon*, 42, 461-476.
- CHIEN S. H., CLAYTON W. R., **1980**, Application of Elovich equation to the kinetics of phosphate release and sorption in soils. *Soil Science Society of American Journal*, 44, 265-268.
- COETZEE P.P., GOUWS K., PIÜDDEMANN S., YACOBI M., HOWELL S., den DRIJVER L., **1995**, Evaluation of sequential extraction procedures for metal speciation in model sediment. *Water SA*, 21, 51-60.
- CRANK J., **1976**, *The mathematics of diffusion*. Oxford University Press, New York.
- DANG Y.P., DALAL R.C., EDWARDS D.G., TILLER K.G., **1994**, Kinetics of zinc desorption from vertisols. *Soils Science Society of American Journal*, 58, 1392-1399.
- DAVIS A., UPADHYAYA M., **1996**, Desorption of cadmium from goethite (α -FeOOH). *Water Research*, 30, 1894-1904.
- DAVIS J.A., **1984**, Complexation of trace metals by adsorbed natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48, 679-691.
- FAN W., WANG.W.X., CHEN J., LI X., YEN Y., **2002**, Cu, Ni and Pb speciation in surface sediments from a contaminated bay of northern China. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 816-832.
- FANGUEIRO D., BERMOND A., SANTOS E., CARAPUÇA H., DUARTE A., **2002**, Heavy metal mobility assessment in sediments based on a kinetic approach of the EDTA extraction: search for optimal experimental conditions. *Analytica Chimica Acta*, 459, 245-256.
- FÖRSTNER U., **1985**, *Chemical methods for assessing bioavailable metals in sludges*. Elsevier, London.
- FULLER C. C., DAVIS J. A., **1987**, Processes and kinetics of Cd^{2+} sorption by calcareous aquifer sand. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 51, 1491-1502.
- GHESTEM J.P., **1997**, Extraction par l'EDTA de métaux traces de sols pollués; application à l'étude de la faisabilité d'une spéciation de ces métaux. Thèse, Université Paris VII
- GRAY C.W., Mc LAREN R.G., ROBERTS A.H.C., CONDRON L.M., **1999**, Effect of soil pH on cadmium phyto-availability in some New Zealand soils. *New Zealand Journal of Crop Horticulture Science*, 27, 169-179.
- GUY R.D., CHAKRABARTI C.L., McBAIN D.C., **1978**, Evaluation of extraction techniques for fractionation of copper and lead in model sediment systems. *Water Research*, 12, 21-24.
- HAVLIN J.L., WESTFALL D.G., OLSEN S.R., **1985**, Mathematical models for potassium release kinetics in calcareous soils. *Soil Science Society of American Journal*, 49, 371-376.
- IZQUIERDO C., USERO J., GRACIA I., **1997**, Speciation of heavy metals in sediments from Salt Marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 34, 123-128.

- JARDINE D.L., SPARKS P.M., **1984**, Potassium-Calcium exchange in a multireactive soil system: I kinetics. *Soil Science Society of American Journal*, 48, 39-45.
- JENNE E.A., **1968**, Control on Mn, Fe, Co, Ni, Cu and Zn concentrations in soils and water: the significant role of hydrous Mn- and Fe-oxydes. *American Chemical Society*, 73, 337-387.
- JONES B., TURKI A., **1997**, Distribution and speciation of heavy metals in surficial sediments from the Tees estuary, North-east England. *Marine Pollution Bulletin*, 34, 768-779.
- JOPONY M., YOUNG S.D., **1987**, A constant potential titration method for studying the kinetics of Cu^{2+} desorption from soil and clay minerals. *Journal of Soil Science*, 38, 219-228.
- KERSTEN M., FÖRSTNER U., **1986**, Chemical fractionation of heavy-metals in anoxic estuarine and coastal sediments. *Water Science and Technology*, 18, 121-130.
- KHEBOIAN C., BAUER C.F., **1987**, Accuracy of a commonly used sequential extraction technique in determining the speciation of cadmium in soils. *Analytical Chemistry*, 59, 1417-1423.
- KRISHNAMURTI G.S.R., NAIDU R., **2000**, Speciation and phyto-availability of cadmium in selected surface soils of South Australia. *Australian Journal of Soil Research*, 38, 991-1004.
- KUO S., MIKKELSEN D.S., **1980**, Kinetics of zinc desorption from soils. *Plant Soil*, 56, 355-364.
- LAM M., TJIA A., **1997**, Speciation study of chromium, copper and nickel in coastal estuarine sediments polluted by domestic and industrial effluents. *Marine Pollution Bulletin*, 34, 949-959.
- LANG-MICHAUT C., **1990**, *Pratique des tests statistiques*. Bordas, Paris.
- LECKIE J.O., **1988**, Coordination chemistry at the solid/solution interface. In *Metal Speciation Theory, Analysis and Application*; Kramer J.R., Allen H.E., Lewis Publisher, New York.
- LELEYTER L., PROBST J.L., **1999**, A new sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace elements in river sediments. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 73, 109-128.
- LIN J.G., CHEN S.Y., **1998**, Mobilization kinetics of heavy metals from contaminated river sediment of northern Taiwan by complexing agents. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 67, 511-529.
- LOPEZ-SANCHEZ J.F., RUBIO R., RAURET G., **1993**, Comparison of two sequential extraction procedures for trace metal partitioning in sediments. *Analytical Chemistry*, 51, 113-121.
- MARTELL A.E., SMITH R.M., **1973-1989**, *Critical Stability Constants*. Plenum, New-York.
- MARTIN J.M., NIREL P., THOMAS A.J., **1987**, Sequential extraction techniques: promises and problems. *Marine Chemistry*, 22, 313-341.
- Mc GRATH D., **1996**, Application of single and sequential extraction procedures to polluted and unpolluted soils. *The Science of the Total Environment*, 178, 37-44.
- MEGUELLATI M., ROBBE D., MARCHANDISE P., ASTRUC M., **1983**, *Proc. Int. Conf. on heavy metals in the environment*. CEP Consultants, Edinburgh.
- MORILLO J., USERO J., GRACIA I., **2002**, Heavy metal fractionation in sediments from the Tinto river (Spain). *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 82, 245-257.

- MOUVET C., BOURG A.C.M., **1983**, Speciation (including adsorbed species) of copper, lead, nickel, and zinc in the Meuse river. Observed results compared to values calculated with a chemical equilibrium computer program. *Water Research*, 17, 641-649.
- NAIR C.K., BALCHAND A.N., NAMBISAN P.N.K., **1991**, Heavy metal speciation in sediments of Cochin estuary determined using chemical extraction techniques. *The Science of the Total Environment*, 102, 113-128.
- NIREL P.M.V., MOREL F.M.M., **1990**, Pitfalls of sequential extractions. *Water Research*, 24, 1055-1056.
- NOWACK B., KARI F.G., HILGER S.U., SIGG L., **1996**, Determination of dissolved and adsorbed EDTA species in water and sediments by HPLC. *Analytical Chemistry*, 68, 561-566.
- PFEIFFER G., FÖRSTNER U., STOFFERS P., **1982**, *Senckenberg Marit*, 14, 23-32.
- POLYAK K., HLAVAY J., **1999**, Environmental mobility of trace metals in sediments collected in the Lake Balaton. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 363, 587-593.
- PRIBIL R., **1972**, *Analytical Applications of EDTA and Related Compounds*. Pergamon Press Ltd, Oxford.
- QUEVAUVILLER P., **1998**, Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis I. Standardization. *Trends in analytical chemistry*, 17, 289-298.
- RAICHU F., **2001**, SIGMA PLOT, Software informático.
- RAO P.S.C., JESSUP R.E., ROLSTON D.E., DAVIDSON J.M., KILCREASE D.P., **1980**, Experimental and mathematical description of non adsorbed solute transfer by diffusion in spherical aggregates. *Soil Science Society of American Journal*, 44, 684-688.
- RAO P.S.C., JESSUP R.E., ROLSTON D.E., ADDISCOTT T.M., **1982**, Experimental and theoretical aspects of solute diffusion in spherical and non spherical aggregates. *Journal of Soil Science*, 133, 342-349.
- RAPIN F., TESSIER A., CAMPBELL P.G.C., CARIGNAN R., **1986**, Potential artifacts in the determination of metal partitioning in sediments by a sequential extraction procedure. *Environmental Science and Technology*, 20, 836-840.
- RAURET G., RUBIO R., LOPEZ-SANCHEZ J.F., **1989**, Optimization of Tessier procedure for metal solid speciation in river sediments. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 36, 69-83.
- RAURET G., **1998**, Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta*, 46, 449-455.
- RENDELL P.S., BATLEY G.E., **1980**, Adsorption as a control of metal concentrations in sediment extracts. *Environmental Science and Technology*, 14, 314-318.
- RINGBOM A., **1967**, *Les complexes en chimie analytique*. Dunod, Paris.
- SAMANIDOU V., FYTIANOS K., **1990**, Mobilization of heavy metals from river sediments of northern Greece by complexing agents. *Water Air and Soil Pollution*, 52, 217-225.

- SAVVIDES C., PAPADOPOULOS A., HARALAMBOUS K.J., LOIZIDOU M., **1995**, Sea sediments contaminated with heavy metals: metal speciation and removal. *Water Science and Technology*, 32, 65-73.
- SHARPLEY A. N., **1983**, Effect of soil properties on the kinetics of phosphorus desorption. *Soil Science Society of American Journal*, 47, 462-467.
- SIVASUBRAMANIAM S., TALIBUDEEN O., **1972**, Potassium-Aluminium exchange in acids soils: I: Kinetics. *Journal of Soil Science*, 23, 163-176.
- SLAVEK J., WOLD J., PICKERING W.F., **1982**, Selective extraction of metal ions associated with humic acids. *Talanta*, 29, 743-749.
- STUCKI J.W., LEE K., **1999**, Improving soil tests for potassium: fundamental considerations for partitioning between fixed and exchangeable forms and redox effects, Illinois Fertilizer Conference Proceedings.
- TESSER A., **1992**, Sorption of trace elements on neutral particles in oxic environments. In *Environmental Particles*; Buffle J., van Leeuwen H.P., Lewis Publishers, Chelsea.
- TESSIER A., CAMPBELL P.G.C., BISSON M.T., **1979**, Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51, 844-851.
- URE A.M., **1993**, Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the commission of the European communities. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 51, 135-151.
- VALEGA M., **2002**, Efeito das plantas na acumulação de mercúrio em sedimentos de sapais. Tese de Mestrado, Universidade de Aveiro.
- van LEEUWEN H.P., **1992**, Dynamic aspect of metal speciation in aquatic colloidal systems. In *Environmental Particles*; Buffle J., van Leeuwen H. P., Lewis Publishers, Chelsea.
- VANDEVIVERE P., HAMMES F., VERSTRAETE W., FEIJTEL T., SCHOWANEK D., **2001**, Metal decontamination of soil, sediment and sewage sludge by means of transition metal chelant [S,S]- EDDS. *Journal of Environmental Engineering ASCE*, 127, 802-811.
- VERWEIJ W., **1999**, CHEMical Equilibria in AQUatic Systems (CHEAQS). Software informático.
- WANG F., CHEN J., FORSLING W., **1997**, Modeling sorption of trace metals on natural sediments by surface complexation model. *Environmental Science and Technology*, 31, 448-453.
- WANG F., YOST R.S., LINQUIST B.A., **2001**, Soil aggregate size affects phosphorous desorption from highly weathered soils and plant growth. *Soil Science Society of American Journal*, 65, 139-146.
- WEBER W.J., MCGINLEY P., KATZ L.E., **1991**, Sorption phenomena in subsurface systems: concepts, models and effects on contaminants fate and transport. *Water Research*, 25, 499-528.
- YU J., KLARUP D., **1994**, Extraction kinetics of Copper, Zinc, Iron, and Manganese from contaminated sediment using disodium ethylenediaminetetraacetate. *Water, Air and Soil Pollution*, 75, 205-225.

III. Fracionamento de Metais Vestigiais em Águas Estuarinas

III.1. Introdução

III.1.1. Espécies metálicas em águas naturais

Turner (1995) descreveu as águas superficiais dos rios, estuários ou mares como uma mistura complexa composta por todos os elementos estáveis da tabela periódica, numa larga gama de concentrações, por matéria orgânica dissolvida com estruturas desconhecidas, por partículas suspensas e, ainda, por matéria coloidal de origem orgânica e inorgânica. A todo este “cocktail”, é necessário juntar uma grande variedade de microorganismos que interagem com o meio. No presente trabalho, foi dada especial ênfase aos metais vestigiais presentes nesta mistura complexa.

Nas águas naturais apenas uma pequena parte de todo o metal dissolvido se encontra sob a forma livre de cátion hidratado. Os íons metálicos formam complexos estáveis com uma grande variedade de ligandos orgânicos e inorgânicos que têm influência sobre a biodisponibilidade, toxicidade e mobilidade dos metais (*Buffle, 1988; Lund, 1990; Mantoura, 1981; Stumm e Morgan, 1981*).

Entre todos os tipos de espécies metálicas presentes nas águas naturais, distinguem-se principalmente:

- i) os iões metálicos hidratados, na forma livre;
- ii) os complexos inorgânicos dissolvidos;
- iii) os complexos orgânicos dissolvidos;
- iv) as espécies metálicas presentes sob a forma de colóides dispersos;
- v) os metais adsorvidos em colóides ou matéria suspensa.

Os complexos inorgânicos dissolvidos são, na maioria, cloro-, carbonato-, sulfato-, oxo-, ou hidroxocomplexos (Turner, 1981). Por outro lado, as águas naturais contêm matéria orgânica de origem biológica e poluentes orgânicos que podem ter propriedades complexantes. As quantidades de matéria orgânica dissolvida variam entre 0,3 e 3 mg.L⁻¹ de carbono nas águas do mar e entre 1 e 10 mg.L⁻¹ em rio, lagos e estuários (Cosovic, 1985). Perto de 50% do chumbo (Capodaglio et al., 1989; Capodaglio et al., 1990) e mais de 90% do cobre (Apte et al., 1990; van den Berg e Rebello, 1986) e zinco (Bruland, 1989; Donat e Bruland, 1990) encontram-se, geralmente, complexados por ligandos orgânicos nas águas do mar.

A matéria húmica representa 70 a 90 % do carbono orgânico dissolvido (DOC) em zonas lagunares e 10 a 30 % nas águas salgadas, e tem, assim, um papel predominante na distribuição final dos iões metálicos (Beveridge e Pickering, 1980; Hering e Morel, 1988).

Por outro lado, 95 % dos metais transportados da terra para o mar, pelas águas superficiais, são metais adsorvidos directamente sobre partículas de minerais ou sobre matéria orgânica ligada a essas partículas (Salomons e Förstner, 1984). Os metais adsorvidos podem, ainda, ser redistribuídos entre a fase sólida e a fase aquosa devido aos vários equilíbrios envolvidos e às variações das condições físico-químicas da água (Mota e Correia dos Santos, 1995).

É, ainda, de salientar que o processo de floculação e a sedimentação das partículas ocorre principalmente nos estuários devido, principalmente, à grande variação da salinidade que aí se regista (Aster, 1978; Horne e Marine, 1969).

III.1.2. A relevância da concentração de ião metálico presente na forma livre - modelo da actividade do ião livre

Os efeitos fisiológicos, ecológicos e toxicológicos de um metal dependem, maioritariamente, das formas químicas sob as quais este se encontra no meio, ou seja, da sua especiação. Nos últimos anos, vários autores (*Canterford e Canterford, 1980; Guy e Kean, 1980; Sunda e Fergusson, 1983; Sunda e Gillespie, 1979; Sunda e Guillard, 1976; Xue et al., 1988*) estudaram a relação entre a concentração do ião livre hidratado M_{aq}^{n+} de um metal e a sua toxicidade sobre várias espécies animais ou vegetais, com base na teoria de que o metal livre é a única forma química acessível aos organismos vivos. Por exemplo, *Sanders e Jenkins (1984)* interessaram-se pelo efeito do Cu(II) sobre o crescimento de larvas de caranguejos enquanto que *Peterson et al. (1984)* estudaram o efeito do Cd(II) sobre a alga “chlorophyte” (*S. Quadricanda*). Os resultados obtidos nesses estudos demonstraram que a concentração do ião livre de um metal é um factor chave que determina os seus efeitos biológicos. No entanto, todos os resultados obtidos nos estudos realizados com organismos vivos são acompanhados de poucas explicações racionais que permitam ilustrar a importância da actividade do ião livre sobre a toxicidade e remobilização dos metais (*Campbell, 1995*).

Por essa razão, *Morel (1983)* propôs, como forma de estudar as interações entre os metais e os organismos vivos do meio aquático, o *modelo da actividade do ião livre* que estabelece uma relação entre a concentração do ião livre hidratado M_{aq}^{n+} e a concentração dos complexos formados à superfície das células das membranas. Segundo este modelo, o efeito de um certo metal sobre organismos vivos pode ser previsto considerando diferentes variáveis do meio, tais como a concentração total do metal considerado, o pH, a concentração de ligandos naturais presentes nas águas ou a concentração de metais competitivos que podem todas afectar a actividade do ião metálico livre (*Campbell, 1995*). *Guy e Kean (1980)* utilizaram este modelo para determinar os efeitos do cobre sobre o crescimento da alga *Selenastrum capricornutum* na presença de vários ligandos hidrofílicos. Para a maior parte dos ligandos testados (EDTA, NTA e trietilenotetramina), o crescimento das algas cessa quando se atinge um valor de pCu^{2+} próximo de 8, igual ao valor previsto com o modelo da actividade do ião livre.

No entanto, este modelo só pode ser aplicado assumindo condições bem definidas e vários estudos mostraram que a sua utilização é bastante limitada (*Campbell, 1995*). Por outro lado, a

maioria dos estudos que permitem relacionar a biodisponibilidade de um metal com a actividade do ião livre, utilizando este modelo, foram realizados em meios controlados na ausência de matéria orgânica natural e raros são os trabalhos realizados para testar a aplicabilidade deste modelo na presença de matéria orgânica (Campbell, 1995).

Embora este modelo apresente ainda muitas falhas, a maior parte dos estudos relacionados com a toxicidade de metais em águas naturais tem por base a determinação da fracção lábil de metal, isto é, a fracção de metal facilmente libertável que inclui a fracção de metal livre. Para a determinação da fracção lábil do metal têm sido propostos diversos métodos de fraccionamento. Existe, no entanto, alguma ambiguidade associada à noção de labilidade, pelo que esta será discutida nas próximas secções.

III.1.3. Noções de labilidade e de janela de detecção analítica das técnicas de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais

Nos últimos anos, tem vindo a generalizar-se a ideia de que, além do metal livre, a fracção de metal biodisponível inclui também a fracção de complexos metálicos capazes de se dissociarem durante o período de tempo necessário aos organismos para os fixar (Buckley, 1994; Hering e Morel, 1990; Lage et al., 1994; Sunda e Guillard, 1976; Tubbing et al., 1994; Vasconcelos et al., 1996).

Segundo Vasconcelos et al. (1996), a fracção de ião metálico biodisponível pode ser estimada por determinação da fracção lábil de metal medida por determinadas técnicas analíticas. A concentração da fracção lábil inclui a concentração de ião metálico hidratado na forma livre e a concentração de ião metálico envolvido em complexos que se dissociam durante o tempo de análise (Vasconcelos e Azenha, 1996).

No caso de técnicas que utilizam o método de troca de ligandos, como é o caso da voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva (AdCSV) ou da extracção em fase sólida (SPE) com resinas de troca catiónica, a concentração de metal lábil é igual a concentração de ião metálico hidratado na forma livre, $[M_{aq}^{n+}]$, mais a concentração de ião metálico que trocou de ligando, $[ML_i]$:

$$[M_{labil}] = [M_{aq}^{n+}] + [ML_i] \quad (III.1.1)$$

Logo, a concentração total de metal, C_M , é igual a:

$$C_M = [M_{aq}^{n+}] + [ML_i] + [ML] \quad (\text{III.1.2})$$

onde $[ML]$ corresponde a concentração de ião metálico complexado por ligandos naturais.

A dissociação de um complexo ML num sistema aquático sob condições de equilíbrio é causada por ligandos bióticos ou abióticos S que podem competir com o ligando inicial L . Assim, parte do metal envolvido no complexo ML é trocável. Esta substituição pode ser esquematizada por duas reacções sucessivas:



Segundo *Vasconcelos e Azenha (1996)*, a labilidade de um complexo depende:

- das características termodinâmicas dos complexos ML e MS em condições de equilíbrio (ou pseudo equilíbrio na presença de organismos vivos);
- da cinética de dissociação do complexo ML .

A relevância da natureza do metal e do ligando competitivo que irá afectar o mecanismo e a velocidade da reacção global de substituição tem sido muito pouco realçada nos estudos de fraccionamento (*Vasconcelos e Azenha, 1996*). Efectivamente, a classificação das espécies como inertes, lentamente lábeis, moderadamente lábeis ou muito lábeis, usando esquemas de fraccionamento que combinam vários métodos, tem sido geralmente associada a natureza do complexo inicial ML (*Vasconcelos et al., 1996*).

A labilidade é um parâmetro operacional cujo valor depende (*Donat et al., 1994; Miller e Bruland, 1994; van den Berg e Donat, 1992*):

- i) do método analítico, porque o tempo de medição varia de uma técnica para outra; além do tempo de medição existem outros factores inerentes à técnica analítica escolhida que podem influenciar a labilidade de um elemento;

- ii) da janela de detecção analítica escolhida; tem sido, recentemente, discutida a influência da razão (concentração de íão metálico/concentração de ligando) sobre a fracção lábil de metal medida, (Buffle e Altmann, 1987; Pinheiro *et al.*, 1994, Vasconcelos *et al.*, 1996).

A janela de detecção analítica de um método de fracionamento é constituída por dois extremos: a capacidade do método de determinar uma diminuição do sinal correspondente ao metal lábil devido à complexação do íão metálico por um ligando natural e no outro extremo inferior, o limite de detecção do método (van den Berg e Khan, 1990; van den Berg e Donat, 1992).

No caso de técnicas que utilizam o método de troca de ligandos, a janela de detecção analítica depende da natureza do metal e do ligando competidor (van den Berg e Donat, 1992). Quando se trata de outros métodos de determinação da fracção lábil de metal presente numa amostra de água, como por exemplo a voltametria de redissolução anódica (ASV), a janela de detecção analítica é limitada, por um lado, pelo limite de detecção da concentração de metal lábil (inferior) e, por outro, pela capacidade dos ligandos orgânicos de competir com a complexação inorgânica dos íões metálicos. (van den Berg e Donat, 1992). É de referir que a janela de detecção analítica pode ser variada usando a mesma técnica analítica com condições experimentais diferentes, ou usando vários métodos cujas janelas de detecção sejam diferentes.

Town e Fillela (2002) mostraram que os parâmetros de complexação (constante de estabilidade condicional e capacidade de complexação) do Ni(II) e Co(II) pela matéria orgânica natural dependem da janela analítica de detecção escolhida para as suas determinações. Por outro lado, Donat *et al.* (1994) utilizaram várias técnicas analíticas, com janelas de detecção analíticas diferentes para determinar o fracionamento do cobre e do níquel em águas naturais. Mostraram, assim, que os resultados obtidos com os vários métodos são complementares e permitem uma maior compreensão do fracionamento destes metais.

Em conclusão, a labilidade depende do método de fracionamento e da janela de detecção analítica escolhida, mas também da própria amostra, nomeadamente do metal considerado, dos ligandos naturais presentes na amostra e ainda da concentração de cada um destes elementos.

III.1.4. Métodos de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais

Tem sido utilizada uma grande variedade de métodos analíticos no fraccionamento de metais vestigiais, em águas naturais. Em geral, estes métodos têm por base a extracção e a detecção de uma fracção de metal presente na amostra, ou de uma fracção de metal formada artificialmente para a determinação do fraccionamento (e.g. metal complexado por um ligando competitivo adicionado à amostra).

A importância da fracção de ião metálico livre como indicador da biodisponibilidade do metal foi já discutida numa secção anterior. Dada a importância do modelo da actividade do ião livre, foram desenvolvidos certos métodos, nomeadamente a potenciometria com eléctrodos selectivos que permite determinar a actividade de ião metálico livre. Contudo, a potenciometria tem limites de detecção demasiado elevados pelo que só pode ser aplicada à estudos de fraccionamento de metais em águas naturais muito contaminadas com metais. Por outro lado, outros métodos foram desenvolvidos com vista a determinar uma fracção lábil de metal, como, por exemplo, os métodos de extracção em fase sólida ou os métodos voltamétricos. É de salientar que a fracção de metal lábil é sempre operacionalmente definida.

Um dos principais problemas encontrados nos estudos de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais encontra-se nos níveis de concentração que são sempre muito baixos (próximos dos nanomolar). Obriga, assim, a utilizar técnicas analíticas com limites de determinação muito baixos e exige, também, que precauções estritas sejam tomadas para evitar contaminações. Idealmente, o fraccionamento dos metais presentes numa amostra de água natural deveria ser realizado sem perturbar os equilíbrios na amostra. Na prática, poucas são as técnicas que permitem determinar concentrações de metais tão baixas como as que são encontradas no meio ambiente sem necessitar de pré-concentração da amostra. Assim, muitos métodos incluem uma separação do ião metálico. Fica então a questão da fiabilidade dos resultados obtidos com estas técnicas que incluem pré-tratamentos e da sua utilização para estimar a biodisponibilidade e a toxicidade dos metais.

III.1.4.1. Métodos Voltamétricos

Os métodos electroquímicos de análise começaram a serem desenvolvidos nos anos 20 pelo químico *Jaroslav Heyrovsky* e provaram ser extremamente úteis em análise química, aliando a uma grande sensibilidade, uma selectividade e uma capacidade de fraccionamento notáveis. Os métodos electroanalíticos de redissolução, constituem, actualmente, um ramo importante da química analítica, com aplicações em várias áreas de investigação e em análises de rotina.

Existem outras técnicas com limites de detecção muito baixos como a Espectrofotometria de Absorção Atómica com câmara de grafite (GFAAS) ou ainda o ICPMS (Espectrometria de Massa acoplada ao Plasma Induzido de Argon). Contudo, estas técnicas determinam apenas concentrações totais e não podem ser utilizadas directamente no caso de soluções salinas (é necessário diluir a amostra ou extrair o analito antes da sua determinação). Por isso, uma das vantagens dos métodos voltamétricos é de poderem ser aplicados directamente para análise de metais vestigiais em água salgada. Neste caso, os catiões maioritários Na^+ e Cl^- não interferem na análise e vão actuar como electrólito suporte.

Têm sido publicados, ao longo dos últimos anos, vários livros e artigos de revisão sobre métodos electroquímicos de redissolução e suas aplicações (*Barek et al., 2001; Brainina et al., 2000; Brainina e Newman, 1993, Czae e Wang, 1999; Kalvoda, 1994; Sawamoto, 1999; Wang, 1994*). Pretende-se, na próxima secção, apenas apresentar de uma forma concisa a informação considerada relevante e de aplicação imediata nos estudos efectuados.

III.1.4.1.1. Princípios e fundamentos teóricos dos métodos voltamétricos de redissolução

A particularidade destas técnicas voltamétricas é o facto de incluírem uma etapa de pré-concentração da espécie electroactiva no eléctrodo de trabalho, antes da aplicação de uma técnica electroanalítica para a sua quantificação. As técnicas voltamétricas de redissolução realizam-se em duas etapas fundamentais: a de pré-concentração e a de redissolução (ou de análise), havendo um período de equilibração a separar as duas etapas, como mostra a Figura III.1.1.

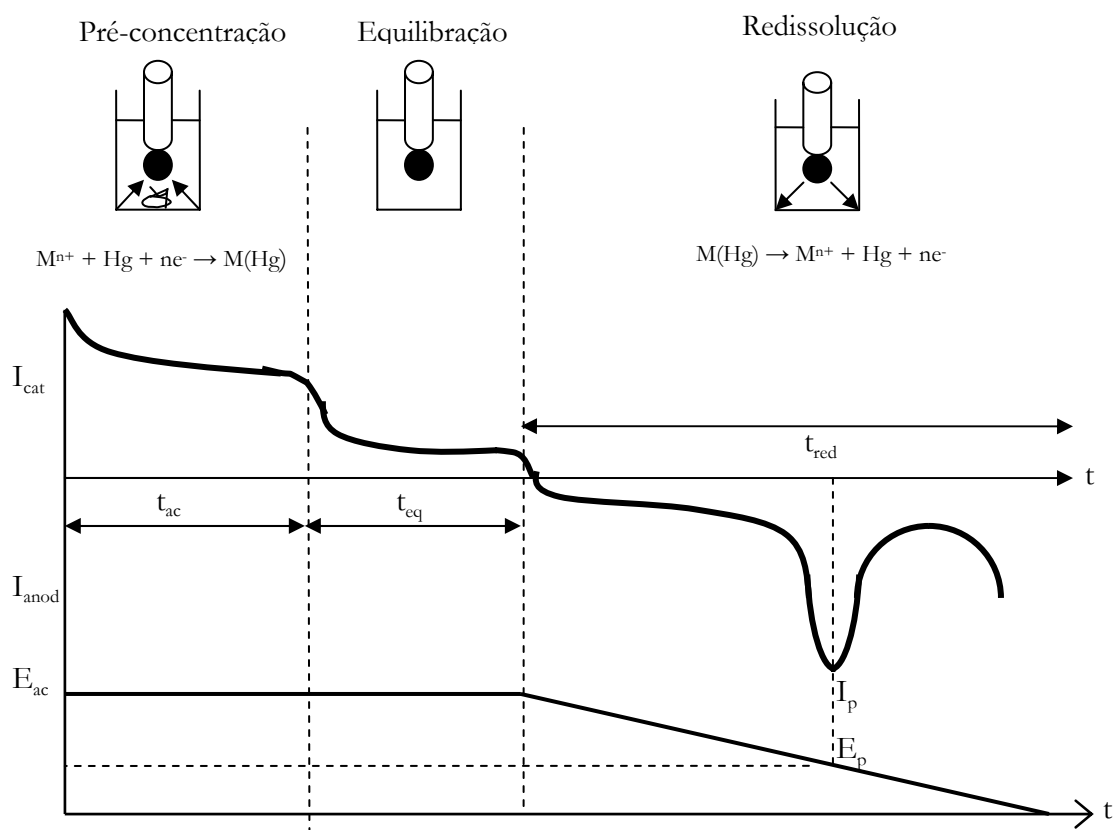


Figura III.1.1: Representação esquemática da realização experimental da voltametria de redissolução com varrimento linear do potencial; Caso do ASV (adaptado de Bard e Faulkner, 1980); t_{ac} , t_{eq} , t_{red} representa o tempo de acumulação, equilíbrio e redissolução, respectivamente. I_{cat} , I_{anod} , I_p representa a intensidade da corrente catódica, da corrente anódica e do pico, respectivamente. E_{ac} e E_p representa o potencial de acumulação e o potencial do pico, respectivamente.

III.1.4.1.1.1. Etapa de pré-concentração

Durante a etapa de pré-concentração, a espécie a determinar é acumulada sobre a superfície ou dissolvida no eléctrodo de trabalho, por imposição de um potencial de acumulação, E_{ac} , durante um determinado período de tempo, t_{ac} . Existem vários tipos de eléctrodos, sendo neste trabalho utilizado o eléctrodo de gota de mercúrio suspensa (HMDE) e o eléctrodo de filme fino de mercúrio (TMFE).

A gota de mercúrio é o eléctrodo de trabalho mais utilizado nas técnicas voltamétricas e, em particular, nos estudos de fraccionamento de metais vestigiais. As vantagens da gota de mercúrio são já bem conhecidas e documentadas em vários livros (Bard e Faulkner, 1980; Heyrovsky e Kuta, 1965). Os filmes de mercúrio são, também, muito utilizados para a

determinação de metais por ASV (Monterroso *et al.*, 2004). No entanto, a sua utilização torna-se mais problemática devido à eventual má reprodutibilidade dos filmes, à incompleta remoção dos filmes no fim de cada experiência ou, ainda à possível formação de composto de Hg(I) insolúveis. Os filmes utilizados no presente trabalho foram preparados seguindo um novo método desenvolvido por Monterroso *et al.* (2004) que garante uma boa reprodutibilidade dos filmes e, consequentemente, bons resultados em termos de quantificação de metais em águas naturais.

A pré-concentração da espécie a determinar é realizada por dois processos: a solubilização no eléctrodo ou a adsorção na superfície do eléctrodo

A) Solubilização no eléctrodo

A pré-concentração de alguns catiões metálicos envolve um processo catódico durante o qual estes são reduzidos ao estado atómico por imposição, ao eléctrodo de trabalho, de um potencial suficientemente negativo. A espécie reduzida dissolve-se no mercúrio do eléctrodo formando uma amálgama. Este processo pode ser representado pela seguinte equação química:



A selectividade, neste processo de pré-concentração, consegue-se através do potencial de acumulação imposto ao eléctrodo. Na Figura III.1.2, mostra-se o efeito do potencial de acumulação na análise de uma solução contendo os iões Bi(III), Cu(II), Pb(II) e Cd(II). O Bi(III) pode ser reduzido selectivamente por aplicação de um potencial suficientemente negativo para reduzir os iões Bi(III), por exemplo -0,40V *vs.* SCE, mas que não é suficiente para reduzir os outros iões presentes. De modo idêntico, a -0,60 V *vs.* SCE o Pb(II), o Cu(II) e o Bi(III) podem ser reduzidos sem que ocorra a redução do Cd(II). No entanto, é impossível depositar o Pb(II) sem depositar simultaneamente o Cu(II) e o Bi(III), porque o potencial necessário para reduzir os iões Pb(II) é suficiente para reduzir aqueles dois iões. Os quatro iões metálicos são reduzidos simultaneamente a -0,80 V *vs.* SCE.

Como é evidente, a aplicabilidade deste método de pré-concentração limita-se a catiões metálicos que, após redução, formem uma amálgama. Assim, metais não solúveis ou pouco solúveis no mercúrio, como por exemplo o ião arsénio ou o ião ferro, ou que possuam

potenciais de oxidação mais positivos do que o mercúrio, como por exemplo, a ião prata e o ião ouro, não podem ser pré-concentrados por este processo. Neste último caso, a oxidação do próprio eléctrodo origina correntes elevadas que mascaram a corrente originada pelo ião metálico.

O processo aqui descrito tem sido extensivamente usado na determinação por ASV de concentrações vestigiais de alguns catiões metálicos, principalmente Pb(II), Cu(II), Cd(II) e Zn(II), em diferentes amostras de água (Achterberg *et al.*, 2003; Bazzi *et al.*, 2002; Botelho *et al.*, 2002; Plasvic, 2003; Velásquez *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2002a).

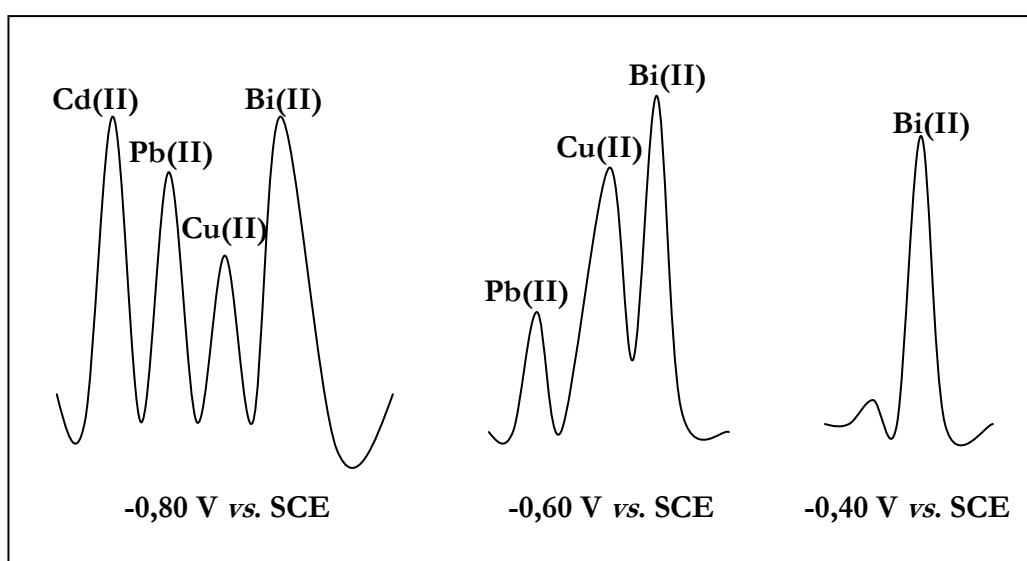


Figura III.1.2: Efeito do potencial de acumulação (Wang, 1985)

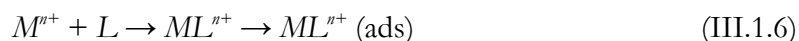
B) Adsorção na superfície do eléctrodo

O processo de pré-concentração referido anteriormente constitui uma limitação à aplicação destes métodos de análise a numerosos compostos que, não sendo solúveis no mercúrio, não podem ser acumulados daquela maneira. No entanto, dada a inerente sensibilidade proporcionada pela etapa de pré-concentração, que antecede a determinação voltamétrica, foram desenvolvidos métodos alternativos de acumulação. Um dos métodos alternativos envolve a acumulação por um processo de adsorção, o qual apresenta fundamentalmente duas vantagens:

- i) alargar o campo de aplicação das técnicas de redissolução a espécies não electroactivas;

- ii) o material é acumulado numa camada mono molecular à superfície do eléctrodo, encontrando-se acessível para ser reduzido ou oxidado, instantaneamente, durante a etapa de análise; por conseguinte, a corrente medida é independente do coeficiente de difusão da espécie na gota, podendo utilizar-se técnicas com varrimento rápido do potencial que, ao proporcionarem valores de corrente mais elevados, melhoram a sensibilidade.

A acumulação por adsorção de um catião metálico envolve a reacção desse catião com um reagente L apropriado, da qual resulta a acumulação por adsorção da espécie na forma de complexo. No caso de catiões metálicos M^{n+} , este processo pode ser representado pela seguinte equação química:



A adsorção constitui um processo alternativo e eficaz para acumular catiões metálicos e baseia-se na tendência que determinados complexos metálicos têm para serem adsorvidos na gota de mercúrio. Esta propriedade torna possível a acumulação de iões metálicos que não podem ser pré-concentrados por redução ao estado metálico no HMDE.

Para iões metálicos que formam amálgamas com o mercúrio, existe a possibilidade de realizar a sua acumulação de modo mais selectivo, adoptando um procedimento, introduzido por *van den Berg (1986)* e que envolve os seguintes passos:

- i) formação de amálgama;
- ii) oxidação do metal amalgamado;
- iii) formação do complexo e sua adsorção ao eléctrodo.

Colombo e van den Berg (1997) apresentaram um método que combina os dois tipos de acumulação acima referidos: acumulação por adsorção no eléctrodo de mercúrio do metal complexado e acumulação pelo método de *van den Berg (1986)*.

Quando a pré-concentração da espécie ocorre por um processo de adsorção, a técnica é denominada por voltametria de redissolução adsortiva (AdSV), realçando-se, assim, a importância da adsorção na acumulação da espécie.

Em ambos os processos de pré-concentração acima descritos, a velocidade e a eficiência do transporte da espécie em análise para o eléctrodo são aumentadas por agitação da solução ou por rotação do próprio eléctrodo. A etapa de pré-concentração deve ter a duração necessária para que se deposite uma quantidade significativa de analito de modo a ter-se uma sensibilidade adequada. Contudo, a electrólise da solução não é exaustiva pelo que, para fins analíticos, é importante que a fracção de iões metálicos removidos em cada ensaio seja reprodutível. Sendo uma técnica comparativa, é imprescindível a padronização das condições de trabalho. Assim, os parâmetros que possam afectar a corrente do pico, como a área superficial do eléctrodo, a velocidade de agitação, a duração e o potencial de acumulação, devem ser cuidadosamente controlados para se garantirem resultados reprodutíveis.

O facto da pré-concentração se realizar na própria solução-amostra, sem necessidade de se utilizarem previamente técnicas separativas, como por exemplo permuta iónica ou extracção, constitui uma grande vantagem ao diminuir significativamente o tempo de análise e ainda o risco de contaminação e de perda de analito.

III.1.4.1.1.2. Etapa de equilibração

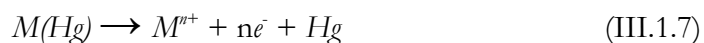
Após o período de acumulação, segue-se um período de equilibração, cujo tempo t_{eq} varia de 2 a 30 s de duração. Durante esta fase, mantém-se o potencial aplicado mas suspende-se a agitação da solução de modo a eliminar a turbulência e uniformizar a distribuição da espécie no eléctrodo.

III.1.4.1.1.3. Etapa de redissolução

Nesta etapa procede-se à determinação quantitativa da espécie depositada por aplicação de um varrimento do potencial no sentido anódico ou catódico. As técnicas voltamétricas de redissolução são classificadas de acordo com o sentido do varrimento do potencial usado nesta etapa. Assim, se durante a etapa de acumulação o eléctrodo funcionar como cátodo, o varrimento do potencial será no sentido anódico, a redissolução da espécie acumulada dar-se-á por oxidação e a técnica denomina-se voltametria de redissolução anódica (ASV). Inversamente, se durante a etapa de acumulação o eléctrodo funcionar como ânodo, o varrimento será no sentido catódico, a reacção de redissolução será uma redução e a técnica denomina-se voltametria de redissolução catódica (CSV). No caso da voltametria de

redissolução com acumulação adsortiva (AdSV), a redissolução da espécie acumulada pode ser feita por varrimento do potencial quer no sentido anódico quer no sentido catódico, consoante as características electroquímicas da espécie em estudo.

A intensidade da corrente resultante da reacção de dissolução é registada em função do potencial aplicado. O sinal analítico obtido é proporcional à concentração da espécie no eléctrodo, a qual, por sua vez, é proporcional à sua concentração na solução. No caso da ASV, a corrente eléctrica desenvolvida será originada pela oxidação dos metais amalgamados, $M(Hg)$, quando se procede ao varrimento anódico do potencial aplicado ao eléctrodo, de acordo com a equação:



No caso da adsorção de complexos, a corrente registada é originada pela redução do catião metálico ou pela redução do ligando do complexo adsorvido. No primeiro caso, o potencial de redução é característico do metal que está a ser determinado, facto que é analiticamente vantajoso. No segundo processo, em que ocorre a redução do ligando, a sensibilidade do método é, geralmente baixa, porque além da redução do ligando do complexo adsorvido, verifica-se também a adsorção e redução de ligando livre presente na solução. Contudo, a redução do ligando é conveniente principalmente quando o catião metálico é reduzido a potenciais bastante negativos, como é o caso do hólmio (*Wang e Zadeh, 1987*).

Durante esta etapa é registada a intensidade de corrente, relativa à reacção de redissolução, em função do potencial aplicado, obtendo-se assim um voltamograma.

Como se pode verificar na Figura III.1.3, os picos voltamétricos de redissolução podem ser caracterizados pelos seguintes parâmetros:

- i) potencial de pico, E_p , que fornece uma indicação qualitativa da identidade da espécie;
- ii) corrente do pico, I_p , que nos dá uma medida quantitativa da concentração da espécie;
- iii) largura do pico a meia altura, $W_{1/2}$, que está relacionada com o número de electrões envolvidos na reacção de eléctrodo e com a cinética de reacção.

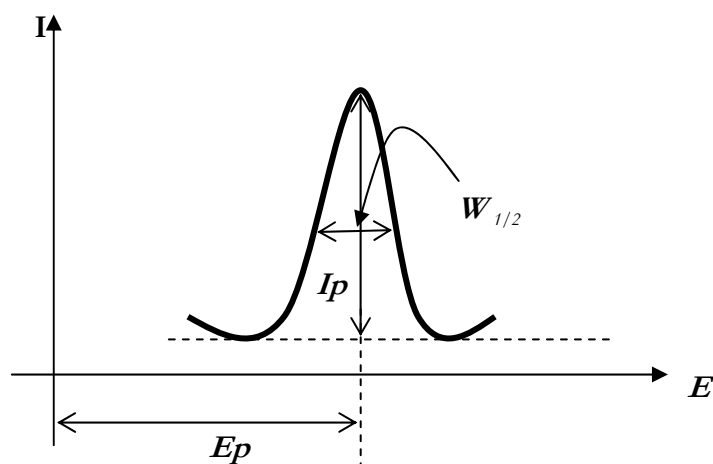


Figura III.1.3: Parâmetros usados na caracterização de um pico obtido por voltametria de redissolução.

Para realizar a etapa de redissolução utilizam-se várias técnicas electroanalíticas. A maioria utiliza um processo de amostragem de corrente que permite diminuir a contribuição da corrente capacitiva para a corrente total medida, fazendo aumentar significativamente a sensibilidade. Neste trabalho, interessamo-nos principalmente pela voltametria diferencial por impulsos e pela voltametria de onda quadrada.

III.1.4.1.1.4. Voltametria diferencial por impulsos

O sinal aplicado ao eléctrodo na voltametria diferencial por impulsos consiste numa rampa de potenciais à qual se sobrepõem, periodicamente, impulsos com a mesma amplitude, ΔE (Figura III.1.4). A amplitude dos impulsos pode variar entre os 10 e 100 mV, com cerca de 60 ms de duração, e repetem-se a uma cadência de 0,5 a 5 s. Geralmente, a velocidade de varrimento do potencial da rampa é pequena (2 a 10 mV/s), pelo que, durante o impulso, o potencial não varia significativamente. Quando um aumento de potencial súbito é aplicado ao eléctrodo, a corrente total do sistema aumenta, porque se verifica um aumento tanto da corrente capacitiva (I_{cap}) como da corrente faradáica (I_f), sendo esta controlada pela velocidade a que ocorre a reacção no eléctrodo. No entanto, verifica-se que a corrente capacitiva diminui rapidamente com o tempo, enquanto que, a corrente faradáica diminui lentamente ($I_{cap} \propto e^{-t/Rc}$, $I_f \propto t^{-1/2}$) (Ellis, 1973). Desta forma é possível medir a corrente reduzindo ao mínimo a influência da corrente capacitiva.

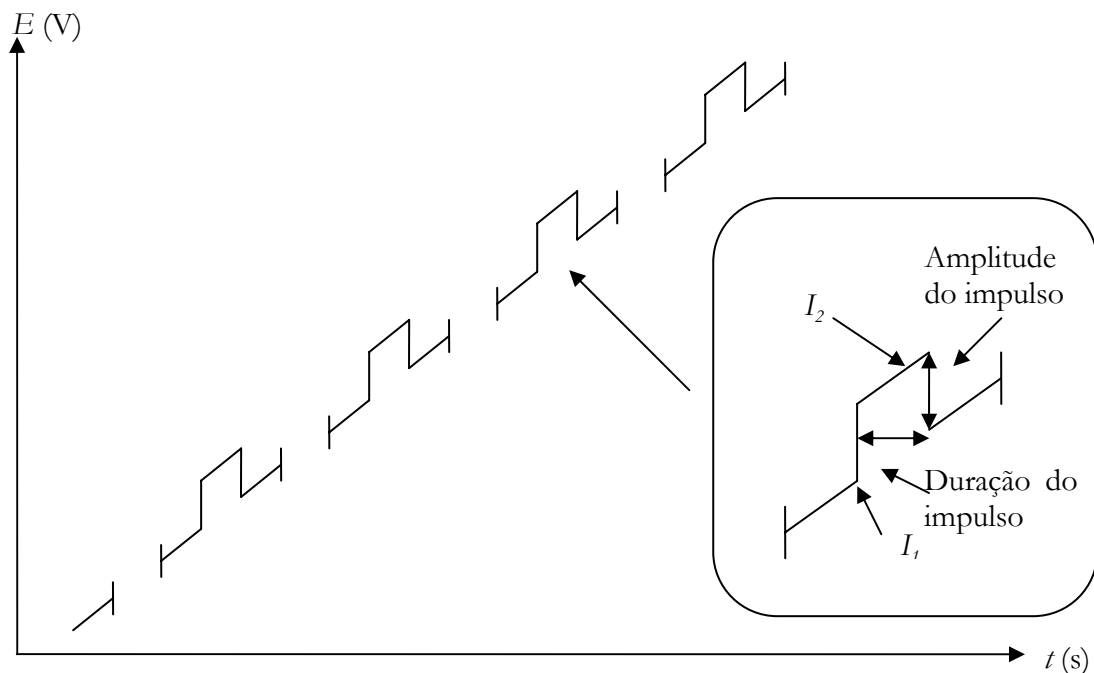


Figura III.1.4: Representação do sinal aplicado em voltametria de impulsos diferenciais.

Com efeito, a corrente é medida momentos antes da aplicação do impulso (I_1) e de novo quase no final do mesmo impulso (I_2) registando-se a corrente total, dada pela diferença entre as duas leituras (ΔI), que é essencialmente corrente faradáica.

Nesta técnica de impulsos, *Osteryoung e Christie (1973)* realçam ainda a importância do período de espera, o qual permite a reposição de uma certa quantidade de analito entre os impulsos. Assim, durante o varrimento, o mesmo analito é removido e depositado várias vezes contribuindo, deste modo, para um aumento da corrente. Estes mesmos autores recomendam, ainda, a utilização de impulsos com amplitudes de cerca de 100 mV com pequena duração para se obter uma sensibilidade elevada.

III.1.4.1.1.5. Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (SWV) é uma técnica voltamétrica de impulsos, relativamente recente, desenvolvida essencialmente a partir dos anos setenta. A forma do potencial aplicado nesta técnica encontra-se esquematizada na Figura III.1.5 e pode ser considerada como uma sobreposição de uma onda quadrada a uma rampa de potenciais em escada.

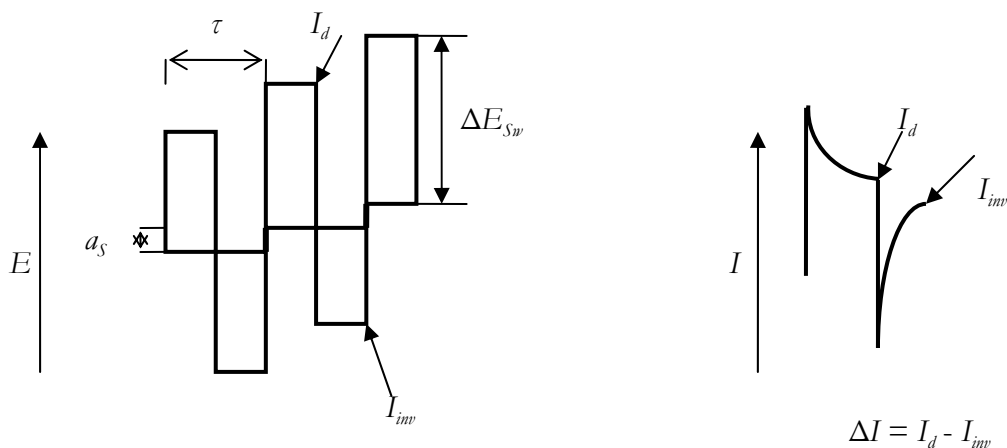


Figura III.1.5: Representação do sinal aplicado em voltametria de onda quadrada. ΔE_{SW} : amplitude da onda quadrada; τ : período da onda quadrada; a_S : amplitude do degrau; I_d e I_{inv} : pontos de amostragem da corrente directa e inversa, respectivamente.

Na primeira metade de cada período, o impulso quadrado é aplicado na mesma direcção da rampa e denomina-se por impulso directo; na segunda metade de cada período, o impulso quadrado é aplicado em direcção oposta à rampa e denomina-se por impulso inverso. No final da metade de cada impulso (impulsos directos e indirectos), as respectivas correntes I_d e I_{inv} são medidas, sendo a corrente total, ΔI , dada pela diferença entre as duas leituras. A corrente total tem um valor superior ao de qualquer das duas componentes, como se pode verificar na Figura III.1.6. Também neste método, a eliminação da corrente capacitiva baseia-se na diferença de velocidade de decaimento da corrente capacitiva e faradáica; a corrente é medida no final de cada metade do impulso quando a corrente capacitiva é desprezável obtendo-se, assim, uma boa sensibilidade.

Os parâmetros a considerar neste tipo de voltametria são o período de onda quadrada, τ , a amplitude do degrau a_S , e a amplitude da onda quadrada, ΔE_{SW} (Figura III.1.5). Estes parâmetros devem ser controlados com rigor de modo a ter uma boa sensibilidade, uma vez que são eles que determinam a forma e a altura do pico obtido.

Para valores de potencial superiores ao potencial de decomposição, consegue-se inverter a reacção que ocorreu no impulso directo e obter uma corrente no impulso inverso, I_{inv} , de sinal contrario à corrente do impulso directo, I_d .

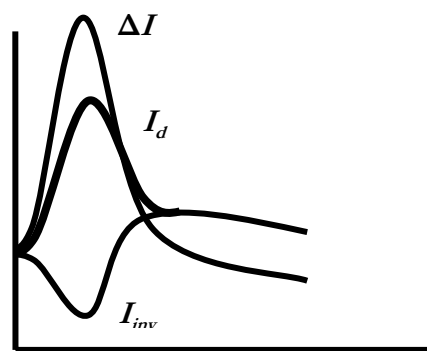


Figura III.1.6: Voltamograma de onda quadrada típico onde se mostra a corrente directa I_d , inversa I_{inv} e a corrente total, $\Delta I = I_d - I_{inv}$.

Existe contudo um limite prático ao aumento da sensibilidade originada pelo aumento da amplitude da onda quadrada (Osteryoung e Osteryoung, 1985). Efectivamente, se a amplitude do impulso, ΔE_{sw} , for inferior a $50/n$ mV, ocorre a diminuição do valor da corrente do pico sem, contudo, melhorar a sua resolução. Amplitudes superiores a $50/n$ mV originam picos largos sem aumentar significativamente a sua altura e, consequentemente, a sensibilidade. O valor de ΔE_{sw} igual a $50/n$ mV permite obter uma boa resolução e uma boa sensibilidade, independentemente do período da onda quadrada.

A velocidade de varrimento efectiva, para a voltametria de onda quadrada, pode ser definida pelo produto $(f \times a_s)$ ou por a_s/τ (f : frequência da onda quadrada). Assim o tempo necessário para se fazer o varrimento num intervalo de potencial, ΔE , é apenas $(\tau \times \Delta E/a_s)$. Mesmo com frequências moderadas, da ordem de 1 a 120 Hz, o tempo para realizar o varrimento é muito pequeno. Daqui resulta uma das principais vantagens da voltametria de onda quadrada que é o facto de ser uma técnica muito rápida, pelo menos 100 vezes mais rápida do que as outras técnicas de impulsos.

III.1.4.1.2. Métodos voltamétricos em estudos de fraccionamento

As técnicas electroquímicas e, nomeadamente, os métodos voltamétricos de redissolução tais como a voltametria de redissolução anódica (ASV), ou a voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva (AdCSV) são dos métodos mais directos para estudos de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais a baixa concentração ($10^{-8} - 10^{-11}$ M) (Mota e Correia dos Santos, 1995). Estes métodos apresentam a vantagem de incluírem uma etapa de pré-concentração, não havendo, assim, necessidade de pré-tratamento da amostra.

Efectivamente, o pré-tratamento da amostra deve ser minimizado para evitar alterações das suas características físico-químicas ou, ainda, contaminações ou perdas significativas de elementos vestigiais.

A informação obtida com estes métodos abrange:

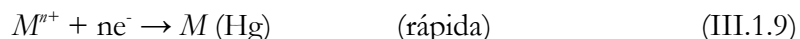
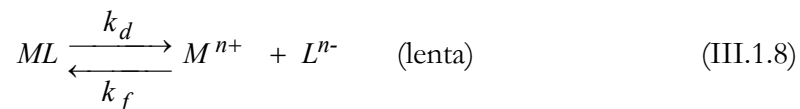
- i) a determinação da distribuição e do fraccionamento de metais vestigiais e, ainda, a determinação da concentração total de metal (*Botelho et al., 2002; Muller et al., 2001; Santos et al., 2002; Velásquez et al., 2002; Wang et al., 2002*);
- ii) a diferenciação entre vários estados de valência de um mesmo elemento numa solução, por exemplo Se(IV)/Se(VI) (*van den Berg e Khan, 1990*) e Cr(VI)/Cr(III) (*Boussemart e van den Berg, 1991; Golimowski et al., 1985*);
- iii) a determinação de parâmetros físico-químicos da amostra (constantes de estabilidade e constantes cinéticas de complexação) (*Bazzi et al., 2002; Hirose, 1994; Jin e Gogan, 2000; Mylon et al., 2003; Scarano et al., 1992*).

No entanto, nem sempre é fácil obter uma correcta interpretação dos sinais voltamétricos devido a vários factores que podem influenciar os resultados experimentais. Os métodos voltamétricos utilizados no presente trabalho, a ASV e a AdCSV, são dos mais eficientes para a realização de estudos de fraccionamento de metais em soluções, contudo apresentam certas limitações que serão descritas nas próximas secções.

III.1.4.1.2.1. Voltametria de redissolução anódica (ASV)

A voltametria de redissolução anódica tem sido usada por muitos investigadores para determinar a fracção lábil de metais em amostras de água devido à sua grande sensibilidade (*Achterberg et al., 2003; Botelho et al., 2002; Chakrabarti et al., 1993; Florence, 1992; Mylon et al., 2003; Plavsic, 2003*). Com a ASV podem ser atingidos limites de detecção inferiores a 1×10^{-10} M quando são utilizados, na etapa de redissolução, métodos de impulso como a técnica diferencial por impulsos (DP) ou de onda quadrada (SW) (*Mota e Correia dos Santos, 1995*). A maioria dos estudos realizados com esta técnica estão relacionados com a análise de chumbo, cádmio, cobre e zinco que são quatro dos metais pesados de maior interesse ambiental (*Zirino, 1981*).

No caso da ASV, a fracção lábil é constituída por todas as espécies que podem ser reduzidas no eléctrodo de mercúrio. A dissociação de um complexo 1:1, seguida da redução do metal no eléctrodo de gota de mercúrio suspensa (HMDE), pode ser expressa por:

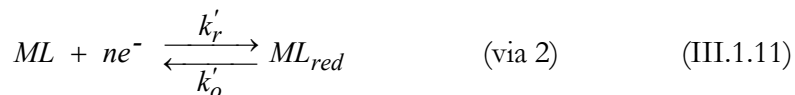
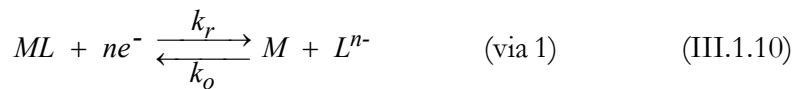


onde ML é o complexo metálico, M^{n+} , o catião metálico e L^{n-} um ligando natural. k_d e k_f são as constantes de dissociação e de formação, respectivamente.

Logo, a fracção lábil de metal determinada por ASV inclui todo o ião metálico livre hidratado M_{aq}^{n+} e o ião metálico envolvido em complexos que sejam dissociados durante o passo de acumulação. Quando o próprio complexo ML não é directamente reduzido, o que raramente acontece, a corrente electrolítica (faradáica) é devida somente à redução do ião M^{n+} resultante da dissociação do complexo ML . Este processo faz com que a corrente seja controlada pela cinética de dissociação do complexo ML . A relação entre a corrente cinética e a corrente de difusão (I_c/I_d) poderá dar uma ideia da labilidade (reactividade) do complexo. A corrente de difusão corresponde à corrente observada para a mesma concentração de ião metálico na ausência de ligando. Quando o controlo cinético é insignificante, isto é, para complexos com elevada capacidade de dissociação (bastante lábeis), tem-se $I_c/I_d \approx 1$. Em princípio, apenas os complexos inorgânicos deveriam dissociar-se durante a análise por ASV, contudo, pode acontecer que certos complexos orgânicos se dissociem em dadas situações (*Capodaglio et al., 1995*).

De modo a reduzir ou impedir a redução directa dos complexos metálicos, o potencial de acumulação deve ser apenas suficientemente negativo de forma a proporcionar uma boa sensibilidade (*Cheng et al., 1994*). Na realidade, se o potencial aplicado à amostra for muito negativo, os complexos metálicos podem ser directamente reduzidos sem ocorrer a dissociação prévia do ião metálico seguido da sua redução no eléctrodo de mercúrio (via 1) (equação III.1.10). Pode ainda acontecer que, apesar de ser aplicado um potencial não muito negativo, apenas o ligando orgânico do complexo ML seja reduzido dando origem ao complexo ML_{red} (via 2) (equação III.1.11). O complexo ML_{red} não disponibiliza catiões metálicos para redução no eléctrodo e, portanto, não dá origem a nenhuma corrente de

redissolução, tornando assim as espécies ML não lábeis. Assim, a não-labilidade em ASV pode ser devida a outras causas para além da velocidade de dissociação metal/ligando (*Cheng et al., 1994*).



onde ML é o complexo metálico, M^{n+} , o catião metálico e L^{n-} um ligando natural. k_r e k_o são as constantes de redução e de oxidação, respectivamente.

Em conclusão, a fracção lábil em ASV contém a fracção de metal livre e também a fracção de complexos metálicos que são dissociados e reduzidos durante o tempo de análise.

Vários autores (*Betti e Papoff, 1988; Buffle, 1988; Capodaglio et al., 1995; Tushall e Brezonik, 1981*) criticaram a utilização da ASV com a gota de mercúrio, para estudos da complexação de metais em águas naturais, por considerarem que esta técnica dá uma estimativa por excesso da fracção lábil de metal devido a possível redução directa dos complexos orgânicos, ou à dissociação dos complexos na camada de difusão na etapa de pré-concentração.

Por outro lado, todos os métodos que envolvem uma etapa de pré-concentração do metal no eléctrodo, apesar de mais sensíveis e, assim, mais facilmente utilizados em sistemas aquáticos, requerem um controlo rigoroso de um número de variáveis experimentais, nomeadamente do tempo de acumulação de metal no eléctrodo (t_{ac}) (*Mota e Correia dos Santos, 1995*). Efectivamente, devido ao aumento do tempo de contacto entre o eléctrodo e a solução analisada durante a pré-concentração, a adsorção de matéria orgânica pode originar um problema considerável. A matéria orgânica presente nas águas naturais adsorve frequentemente na superfície do eléctrodo devido às suas propriedades hidrofóbicas (*Mota e Correia dos Santos, 1995*). Este problema é mais importante no caso de amostras de água recolhidas em lagos, ribeiras ou estuários onde existe uma quantidade relevante de ácidos húmicos (*Mota e Correia dos Santos, 1995*).

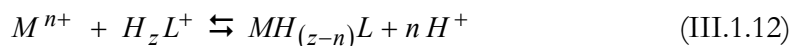
Em conclusão, a ASV, apesar de ter certas limitações quanto a determinação da fracção de metal livre, continua a ser uma técnica bastante utilizada em estudos de fraccionamento de

metais vestigiais em águas naturais por ter uma grande sensibilidade e não necessitar de pré-tratamento da amostra, o que diminui a perturbação da especiação.

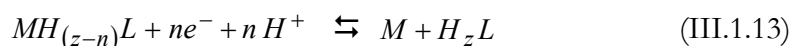
III.1.4.1.2.2. Voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva (AdCSV)

Quando comparada com a voltametria de redissolução anódica, a AdCSV permite determinar um grande número de metais e outro tipo de compostos, porque neste caso a etapa de deposição no eléctrodo de mercúrio não requer a formação de um amalgama entre o metal e o mercúrio. Assim, qualquer elemento capaz de formar, com um ligando deliberadamente adicionado, um complexo redutível que adsorva na gota de mercúrio pode ser determinado (Boussemart *et al.*, 1992; Colombo e van den Berg, 1997; Roitz e Bruland, 1997; van den Berg, 1991). No caso de águas salgadas ou águas estuarinas, os métodos de CSV permitem, já, determinar mais de 20 metais vestigiais (Colombo e van den Berg, 1997).

Nesta técnica, o varrimento de potenciais é precedido pela deposição adsortiva na superfície do eléctrodo de complexos metálicos formados por um ou vários metais analisados e pelo ligando competitivo adicionado à amostra. A formação do complexo entre o catião metálico (M^{n+}) e o ligando competitivo (H_zL) pode ser descrita pela seguinte equação:



Segue-se, depois, a redução do complexo descrita pela equação



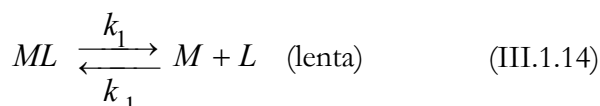
É de salientar que, no método desenvolvido por Colombo e van den Berg (1997) e usado no presente trabalho, parte do metal é reduzido durante o passo de acumulação e forma uma amalgama no eléctrodo de mercúrio. Este metal é, na etapa de equilibração, reoxidado e complexado pelo ligando competitivo, sendo o complexo formado finalmente adsorvido no eléctrodo e reduzido na etapa de redissolução (Jin e Gogan, 2000).

Por AdCSV, podem ser obtidos limites de determinação comparáveis aos da ASV (HMDE) usando tempos de acumulação mais curtos porque todo o material acumulado, sob a forma de uma mono-camada na superfície do eléctrodo de mercúrio, é instantaneamente redissolvido. Consequentemente, podem ser atingidos limites de determinação inferiores a 1×10^{-11} M por

AdCSV, em amostras de água salgada usando tempos de acumulação maiores (Baldwin *et al.*, 1986; Colombo e van den Berg, 1997; Mlakar e Branica, 1989; Prabhu e Baldwin, 1987).

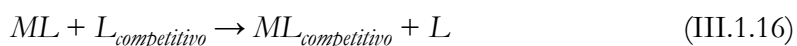
Devido a sua grande sensibilidade e por não necessitar de pré-concentração da amostra, a AdCSV tem sido bastante utilizada em estudos de fraccionamento de metais vestigiais (Abbas *et al.*, 2003; Achterberg *et al.*, 2003a; Colombo e van den Berg, 1997; Donat e Bruland, 1990; Jin e Gogan, 2000; Kogut e Volker, 2003; van den Berg, 1986). Uma possível limitação da AdCSV é que geralmente, só um ou dois metais podem ser determinados simultaneamente, tendo em conta a especificidade dos ligandos usados para estas determinações. No entanto, existem vários métodos que permitem a determinação simultânea de vários metais, como por exemplo, o cobre, o cádmio e o chumbo que podem ser determinados em simultâneo com a oxina (van den Berg, 1986). Colombo e van den Berg (1997) apresentaram um método que permite determinar 6 metais em simultâneo (Cu, Cd, Ni, Pb, Co e Zn), usando uma mistura de ligandos dimetilglioxina (DMG)/oxina. Contudo, este método encontra muitos problemas de interferências entre elementos. Existem, ainda, problemas de diminuição da sensibilidade e da gama de linearidade devido ao facto das condições experimentais, que são óptimas para certos metais não o serem para outros (Colombo e van den Berg, 1997).

No caso da AdCSV, a fracção lábil de metal determinada depende directamente de duas reacções: (as cargas foram omitidas para simplificar as equações)



onde ML é o complexo metálico, M , o catião metálico e L um ligando. k_n são as constantes de dissociação ou de formação do complexo.

Quando o ligando competitivo se encontra em grande excesso, a reacção (III.1.15) pode ser considerada de primeira ordem. Temos ainda $k_2 [L_{\text{competitivo}}] \gg k_{-1}[L]$ pelo que podemos escrever a seguinte equação de reacção irreversível:



Assim, a fracção lábil de metal determinado por AdCSV vai depender de factores cinéticos e termodinâmicos. Por um lado, a constante de formação do complexo ML tem que ser inferior à constante de formação do complexo $ML_{competitivo}$. Por outro lado, a cinética de dissociação do complexo ML deve ser suficientemente rápida para que o metal M possa ser depois complexado pelo ligando competitivo. Para todos os complexos ML , cuja constante de formação é inferior a constante de formação do complexo $ML_{competitivo}$, a labilidade do metal M vai depender da velocidade de dissociação do complexo ML . Logo, as espécies que são termodinamicamente muito estáveis, ou com velocidade de dissociação muito lentas constituem a fracção inerte ou não lábil. Desta forma, a fracção lábil determinada por AdCSV vai depender do próprio ligando competitivo.

III.1.4.2. Método de Extracção em Fase Sólida (SPE)

O princípio de base do método de *extracção em fase sólida* (SPE) consiste em recolher ou extrair o analito numa fase estacionária sólida que é depois eluída de forma a recuperar o analito. Este método permite, assim, uma pré-concentração do analito sendo o factor de pré-concentração dependente da razão (volume de eluato/volume de amostra).

A SPE tem sido principalmente usada como método de pré-concentração associado a várias técnicas de determinação analíticas com o objectivo de determinar a concentração total de metal em águas naturais (*Abou-El-Serbini et al., 2002; Kenduzler e Turker, 2002; Mahmoud et al., 2003; Mustafa et al., 2002; Narin e Soylob, 2003; Saracoglu e Elci, 2002; Uzun et al., 2001*). Contudo, certas fases estacionárias apresentam alguma selectividade para a determinação de formas químicas específicas. Logo, a SPE tem, também, sido usada em estudos de fraccionamento de metais (*Abasse et al., 2002; Abasse et al., 2003; Abollino et al., 2000; Chakrabarti et al., 1993; Figura e McDuffie, 1980; Pesavento et al., 2001*).

O conceito de extracção em fase sólida está principalmente associado à extracção em coluna em que a fase estacionária sólida se encontra pré-empacotada em colunas comerciais prontas a usar ou pode, ainda, ser empacotada no laboratório em colunas de vários tamanhos. No entanto, o método de SPE tem, também, sido usado em vários estudos nos quais os autores preferiram proceder em “batch”, ou seja colocando pequenas quantidades de resina em contacto com a solução (*Abou-El-Serbini, 2002; Cheng et al., 1987; Sawatari et al., 1995; Yabutani et al., 1999*).

No presente trabalho, a extracção em fase sólida foi usada em “batch” para determinação do fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais. Logo, foi dado especial ênfase para a SPE em “batch” na descrição teórica do método, apresentada nas seguintes secções.

III.1.4.2.1. Etapas da extracção em fase sólida

A extracção em fase sólida é composta por 4 etapas fundamentais (Dean, 1998).

- O condicionamento da coluna

Quando se procede em “batch”, esta etapa corresponde à preparação e condicionamento da fase estacionária de forma a remover qualquer tipo de impurezas e pôr a fase estacionária nas condições mais adequadas para a aplicação da amostra.

- Fixação do analito na fase estacionária

Nesta etapa, a amostra é posta em contacto com a fase estacionária havendo transferência do analito da solução para a fase sólida.

- Lavagem da fase estacionária

Esta lavagem permite a remoção da amostra que fica nos interstícios da fase estacionária.

- Eluição

A eluição da fase estacionária permite a recuperação do analito.

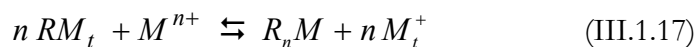
III.1.4.2.2. Composição da fase estacionária

As fases estacionárias geralmente utilizadas em estudos de fracionamento são de três tipos (Abasse *et al.*, 2003; Abasse *et al.*, 2002; Abollino *et al.*, 2000; Chakrabarti *et al.*, 1993; Figura e McDuffie, 1980; Pesavento *et al.*, 2001):

- i) Troca aniónica
- ii) Hidrofóbicas
- iii) Troca catiónica

No presente trabalho, foram usadas, apenas, fases estacionárias de troca catiónica. Estas fases estacionárias são redes tridimensionais de polímeros orgânicos que contêm grupos funcionais

aniónicos cuja carga está contra-balançada por um catião que pode ser trocado por um catião da amostra segundo o equilíbrio descrito pela equação (III.1.17):



onde M_t é o catião trocável (H^+ , Na^+ ...), M^{n+} o catião extraído e RM_t ou R_nM o complexo metálico formado com o grupo funcional R da resina.

É, geralmente, mencionado que as resinas estão na forma ácida (ou na forma H^+) quando o ião trocável é o ião hidrogénio, e na forma de sal (ou na forma M) quando o catião trocável é o catião M_t outro que não o H^+ .

Os grupos funcionais mais utilizados em resinas de troca catiónica são ácidos fortes, como o ácido sulfónico, $-SO_3H$, que está sempre ionizado independentemente do pH da amostra, ácidos fracos como o ácido carbóxico, $-COOH$, cuja capacidade de troca diminui com a diminuição do pH que provoca a protonação do grupo carboxilato $-COO^-$, ou ainda grupos com propriedades quelantes como é o caso do ácido iminodiacético (Raïtt, 1970). Estes grupos quelantes têm, de um modo geral, propriedades ácidas e a sua protonação diminui a extensão da complexação e, consequentemente, a sua eficiência de extracção. É de salientar que as fases estacionárias com grupos quelantes apresentam, geralmente, maior especificidade (Raïtt, 1970).

A constante de equilíbrio da equação (III.1.17) poderá ser utilizada para determinar a selectividade de uma resina perante um par de catiões (Raïtt, 1970). É de salientar que a constante de equilíbrio termodinâmica deve ser expressa usando as actividades das espécies e não as suas concentrações. Contudo, se considerarmos as actividades, é necessário determinar os coeficientes de actividade das várias espécies, quer na fase líquida, quer na fase sólida (gel). Recorre-se, portanto, à constante de equilíbrio expressa em termos de concentrações e força iónica constante, a qual é designada por coeficiente de selectividade K_C (Raïtt, 1970):

$$K_C = \frac{[R_nM][M_t^+]^n}{[RM_t]^n [M^{n+}]} \quad (\text{III.1.18})$$

A extensão da troca de cátions entre a resina e a solução, quando o estado de equilíbrio foi atingido pode, ainda, ser determinado pelo coeficiente de distribuição da resina K_D , a força iónica constante (Dean, 1998):

$$K_D = \frac{\text{concentração de } M^{n+} \text{ na resina}}{\text{concentração de } M^{n+} \text{ na solução}} \quad (\text{III.1.19})$$

Por outro lado, a capacidade de troca da resina C_p corresponde à concentração total de locais de ligação na resina e é dada por:

$$C_p = [RM_d] + (n \times [R_n M]) \quad (\text{III.1.20})$$

Quando se procede a extracção de M^{n+} numa solução diluída, a concentração $[R_n M]$ é muito inferior a $[RM_d]$ e, portanto, $C_p \approx [RM_d]$.

Logo, a constante de selectividade K_C pode ser expressa da seguinte forma:

$$K_C \approx K_D(M) \times \frac{[M_t^+]}{C_p} \quad \text{com } K_D(M) = \frac{[R_n M]}{[M^{n+}]} \quad (\text{III.1.21})$$

Uma vez que K_C é a constante de equilíbrio, à força iónica constante, daqui se deduz que a extensão da troca de metal medida por K_D , depende da concentração de ião trocável M_t^+ na solução amostra.

Existem Tabelas de selectividade para as resinas mais utilizadas que permitem conhecer a afinidade de cada resina para vários iões. De uma forma geral, as resinas extraem preferencialmente iões com cargas elevadas, iões hidratados com volumes pequenos e, finalmente, iões que interagem fortemente com os grupos funcionais presentes na resina e interagem pouco com iões de cargas opostas presentes na solução (Raiitt, 1970).

III.1.4.2.2.1. Fases estacionárias utilizadas neste trabalho

Neste trabalho foram utilizadas como fase estacionária duas resinas comerciais, a Chelex 100 e a Amberlite CG-50, que apresentam constantes de selectividade muito diferentes para os metais estudados.

a) Resina Chelex 100

A Chelex 100 é um co-polímero de estireno e divinilbenzeno com grupos quelantes iminodiacetato. Os grupos iminodiacetato fixam os cátions metálicos através das ligações com os átomos de oxigénio e azoto. Assim, esta resina apresenta uma forte afinidade para os metais pesados e para os metais alcalino-terrosos, enquanto os metais alcalinos, tais como o sódio e o potássio, são pouco retidos. A selectividade da Chelex 100 é idêntica à selectividade do ácido iminodiacético e a ordem de selectividade desta resina para vários cátions metálicos é bem conhecida e pode ser consultada nos manuais que acompanham a resina (*Bio-Rad laboratories; 2000*). É de referir que os valores do coeficiente de selectividade da Chelex 100 dependem do pH e da força iónica do sistema considerado, uma vez que estes dois parâmetros têm influência sobre a protonação da resina. É recomendada a utilização da Chelex 100 a pH neutro para obter uma boa separação dos cátions metálicos (*Bio-Rad laboratories; 2000*).

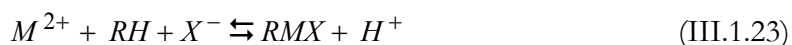
Uma das principais aplicações da resina Chelex 100 tem sido a pré-concentração de cátions metálicos com vista à determinação da sua concentração total em águas naturais, nomeadamente em amostras de águas salgadas (*Baffi et al., 1992; Donat et al., 1994; Gueguen et al., 1999; Jimenez et al., 2002; Kingston et al., 1978; Pyrzyńska e Jońca, 2000*). Neste tipo de aplicação, considera-se que a resina extrai praticamente a totalidade do cátion metálico presente na amostra. Contudo, os trabalhos publicados por *Florence e Batley (1975, 1976)* e *Florence (1977)* demonstram que a Chelex 100 é selectiva na adsorção de cátions metálicos e que esta selectividade pode ser utilizada para diferenciar fracções lábeis e não lábeis de metais pesados. Por essa razão, a Chelex 100 é, também, utilizada em estudos de fraccionamento de metais em águas naturais. Assim, foi demonstrada, para vários metais, a existência de uma fracção não lábil em extracções com a Chelex 100, em diferentes tipos de águas naturais (*Batley e Gardner, 1978; Batley, 1989; Florence e Batley, 1976; Florence e Batley, 1975; Florence, 1977*). É de referir que, no caso da Chelex 100, a existência de uma fracção não-lábil não se deve apenas a razões cinéticas ou termodinâmicas. Neste caso, a estrutura física da resina é importante

porque a Chelex 100 tem um tamanho de poros próximo de 1,5 nm, o que impossibilita a extracção de catiões metálicos associados a grandes moléculas ou a partículas coloidais (*Apte e Batley, 1995*). Por exemplo, o cobre e o chumbo são catiões que adsorvem com facilidade nos colóides de hidróxido de Fe(III) ou sobre macro-moléculas orgânicas. Logo, estes catiões metálicos adsorvidos constituem uma parte da fracção não lábil de cobre ou chumbo, determinado com a Chelex 100 (*Batley, 1989; Florence, 1982*).

b) Resina Amberlite CG-50

A segunda fase estacionária, usada no presente trabalho, foi a Amberlite CG-50, uma resina ácida polimetacrílica de troca catiónica, que contém grupos carboxílicos. Este tipo de resina tem, geralmente, maior afinidade para os catiões metálicos com maiores cargas. Este facto deve-se às interacções electrostáticas entre os grupos de troca da resina e os iões metálicos com maiores cargas. Por essa razão, estas resinas apresentam, geralmente, maior selectividade na troca de catiões metálicos alcalino-terrosos do que na troca de catiões metálicos alcalinos (*Hayashita et al., 1991*).

A adsorção de catiões na resina Amberlite CG-50, nomeadamente o mecanismo envolvido, depende da valência do catião considerado. Enquanto que a adsorção de um catião metálico monovalente numa resina ácida com grupos carboxílicos ocorre seguindo um único mecanismo, para a adsorção de catiões metálicos M^{2+} divalentes existem dois mecanismos possíveis:



onde RH representa os sítios de troca iónica da resina e X^- representa um anião da solução.

Quando o catião metálico divalente interage com dois sítios de troca iónica, para formar uma estrutura quelante (equação III.1.22), ocorre uma adsorção do tipo 2:1. Por outro lado, a adsorção do tipo 1:1, acompanhada por um anião da solução, pode também suceder (equação III.1.23) (*Hayashita et al., 1991*).

Pesavento et al. (2001) utilizaram a resina Amberlite CG-50 em conjunto com a Chelex 100 para determinar a capacidade de complexação do Cu(II) e do Al(II) de uma solução aquosa de

ligandos. Segundo *Pesavento et al. (2001)*, a principal diferença entre estas duas resinas reside no facto da Amberlite CG-50 formar, com os catiões metálicos, ligações menos fortes sendo, por isso, menos eficiente na competição com os ligandos existentes na amostra. Assim, a utilização conjunta da Amberlite CG-50 e da Chelex 100 em estudos de fraccionamento permite definir uma fracção suplementar não definida quando se usa apenas a Chelex 100:

- i) metal lábil: extraído pelas duas resinas;
- ii) metal moderadamente lábil: extraído apenas pela Chelex 100;
- iii) metal inerte: não extraído pelas duas resinas.

Contudo, de uma forma geral, a resina Amberlite CG 50 é pouco utilizada em estudos de fraccionamento de metais em águas naturais.

III.1.4.2.3. Preparação e condicionamento da fase estacionária

A preparação e o condicionamento da fase estacionária é uma etapa muito importante destes métodos de extracção, sendo necessário muito rigor e atenção na sua execução.

Num primeiro passo, as resinas são tratadas com ácido, de modo a remover todos os catiões presentes na resina, sendo, de seguida, lavadas com quantidades abundantes de água ultrapura. Obtém-se, assim, a resina na forma H^+ . Contudo, dependendo do estudo a realizar, poderá ser necessário converter a resina em outra forma, com intuito de aumentar a extensão da adsorção de catiões metálicos, ou condicionar a resina com a matriz de trabalho.

As resinas têm sido usadas na forma H^+ (*Lin e Nriagu, 1999; Pesavento et al., 2000; Pesavento e Biesuz, 1995; Pyrzyńska e Jońca, 2000; Vasconcelos et al., 1996; Viana et al., 1999*), Na^+ (*Cheng et al., 1994; Mandal et al., 1999; Vasconcelos e Azenha, 1996*), NH_4^+ (*Gueguen et al., 1999; Jimenez et al., 2002; Liu e Ingle, 1989; Vasconcelos e Leal, 1997*), Fe^{2+} (*Ferri e Sangiorgio, 1996*) ou Ca^{2+} (*Figura e McDuffie, 1979; Figura e McDuffie, 1980*). A escolha do contra ião depende inteiramente do estudo realizado e, nomeadamente, do ou dos catiões a serem extraídos, bem como da amostra (matriz salina, quantidade de ligandos naturais).

O pH é um parâmetro importante que deve ser muito bem controlado ao longo da equilibração da amostra com a fase estacionária sendo necessário ter em consideração que a extensão da troca de catiões entre a amostra e a resina, medida por K_D , depende directamente

do pH (ver secção III.1.4.2.2). Por outro lado, as resinas, tais como a Chelex 100, podem ser consideradas como ácidos e, assim, o pH da mistura resina/solução pode ser afectado pela própria resina e variar ao longo da extracção (Pai, 1988). Por estas razões, é de prática comum condicionar a resina com um tampão de pH igual ao da amostra a analisar (Donat *et al.*, 1994; Gueguen *et al.*, 1999; Jimenez *et al.*, 2002; Liu e Ingle, 1989; Mandal *et al.*, 1999; Pyrzyńska e Jońca, 2000). Recorre-se, geralmente, à utilização de tampões de pH quando a resina é usada em coluna. A resina é condicionada na coluna e, imediatamente antes de se introduzir a amostra, passa-se um volume de solução de tampão, seguido do mesmo volume de água ultrapura. Garante-se, desta forma, que o pH da amostra não irá ser alterado quando esta entrar em contacto com a resina. No entanto, os tampões utilizados poderão ser fontes de contaminação (Viana *et al.*, 1999; Cheng *et al.*, 1994). Por essa razão, utilizou-se, no presente trabalho, uma solução alternativa à utilização de tampões que consiste em deixar a resina a equilibrar com água ultrapura cujo pH é mantido igual ao da amostra por adição de base forte (NaOH) ou de ácido forte (HCl).

Numa última fase, a resina deverá ser pré-equilibrada com uma solução de composição em cationes maioritários, similar à da amostra (Apte e Batley, 1995). Desta forma, estes cationes já não entram em competição com os cationes vestigiais para os sítios de fixação da resina e não interferem, assim, na determinação da fracção lábil de metal. Por outro lado, se este tratamento não for realizado, há possibilidade de ocorrer uma variação da composição da amostra durante o período de equilibração, o que poderá afectar a especiação dos metais vestigiais na amostra.

III.1.4.2.4. Factores que influenciam a fixação do analito na fase estacionária

A fixação do analito na fase estacionária depende essencialmente do tempo de contacto entre a fase estacionária e a amostra, da razão massa de resina/volume de solução (m_r/V_s) e ainda do pH da solução.

a) Tempo de contacto

É evidente que, quanto maior o tempo de contacto, maior será a quantidade de metal retido, sendo o limite máximo alcançado quando o equilíbrio entre a solução e a resina é atingindo. Efectivamente, com tempos de equilibração maiores, os complexos metálicos têm mais tempo

para se dissociarem, logo a quantidade extraída pela resina será maior. Assim, o tempo de extracção usado nos estudos de fraccionamento de metais por SPE pode ter influência sobre a fracção lábil de metal determinada devido ao efeito da cinética de dissociação dos complexos naturais presentes na amostra. Refere-se que este parâmetro poderá ser usado para a realização do fraccionamento cinético de metais em águas naturais.

A extracção de cationes metálicos com resinas pode ser conduzida seguindo dois procedimentos, a extracção em coluna e a extracção em “batch”, os quais permitem variar o tempo de extracção de poucos segundos até várias horas (*Viana et al., 1999*). A extracção em coluna é usualmente utilizada quando o tempo de contacto entre a resina e a amostra é curto. *Chakrabarti et al. (1993)* consideram que a utilização da resina Chelex 100 em coluna é ideal quando se pretende tempos de contacto de 6 a 9 s. Ao contrário, os estudos em “batch” são mais eficientes quando se utilizam tempos de contacto mais longos (horas) porque, no caso da coluna, isto exige a utilização de caudais muito reduzidos.

O tempo de contacto resina/solução necessário para se atingir um estado de equilíbrio entre as duas fases depende de muitos factores. Por essa razão, este é, geralmente, escolhido de forma mais ou menos arbitrária, podendo variar de poucos minutos (*Ferri e Sangiorgio, 1996*) até mais de 24 horas (*Baffi et al., 1992*). Contudo, segundo *Pesavento et al. (1999)*, é preferível usar tempos de equilíbrio longos quando os níveis de concentração em metais são baixos, na ordem dos nanomolar, e quando não se conhecem as espécies presentes em solução.

b) razão volume de solução/massa de resina (m_r/V_s)

É importante trabalhar com uma razão massa de resina/volume de solução (m_r/V_s) suficientemente elevada para se garantir que a resina esta em grande excesso em relação a quantidade de cationes presentes em solução (*Pesavento e Biesuz, 1995*). Desta forma é possível considerar $C_p \approx [RM]$ e de acordo com a equação (III.1.21), o valor de K_D (coeficiente de distribuição da resina) será tanto maior quanto maior for a concentração de RM , o que significa que, quanto maior a quantidade de resina, maior a quantidade de metal extraído.

Este excesso de resina é, ainda, imposto pelo próprio método quando se procede em “batch”. Efectivamente, para deslocar o equilíbrio da equação (III.1.17) no sentido directo de modo a remover todo o metal existente em solução, um dos reagentes deve encontrar-se em largo excesso e por isso, é necessário ter um excesso de resina. Esta última condição permite

considerar que a quantidade de locais de ligação da resina ocupados pelo catião trocável é constante durante a extracção. É de salientar que, na ausência de ligandos (todo o metal encontra-se na forma livre), a resina extrai 100% dos catiões presentes em solução se a razão massa de resina/volume de solução (m_r/V_s) utilizada for suficientemente elevada para garantir um excesso de resina.

c) pH da solução

O pH é também um parâmetro importante que deve ser controlado durante todo o período de contacto entre a amostra e a fase estacionária. Efectivamente, a eficiência das resinas é muito dependente do pH. A extensão da troca de catiões entre a resina e a solução, medida por K_D , varia com a concentração de ião trocável na solução. Assim, no caso da resina na forma H^+ , o valor de K_D depende do pH. Por outro lado, segundo *Pesavento e Biesuz (1995)*, os catiões metálicos podem formar 3 tipos de complexo dentro da resina, ML , ML_2 e $M(HL)_2$, segundo o pH da solução. Logo é possível concluir que a fracção de catiões metálicos extraídos pela resina está directamente relacionada com o pH da solução. Assim, é necessário tentar minimizar as variações de pH ao longo da extracção. Por outro lado, as variações do pH da solução podem dar origem a variações da especiação dos metais e consequentemente dar origem a resultados errados em termos de fraccionamento. Apesar do pH óptimo variar de metal para metal, pode-se encontrar uma determinada gama que englobe a maioria dos metais; normalmente ao valor de pH 6,5 as resinas apresentam boas percentagens de remoção da maioria dos metais (*Pai, 1988*).

III.1.4.2.5. Lavagem e eluição da fase estacionária

Após a fase de contacto da amostra com a fase estacionária, procede-se a uma lavagem da resina com uma solução que permita remover o excesso de amostra que pode permanecer nos interstícios da fase estacionária. No caso da extracção de catiões metálicos com resinas, esta lavagem é geralmente realizada com água ultrapura que assegura a inalterabilidade da quantidade de catiões extraídos.

Numa segunda fase, o analito adsorvido na fase estacionária deve ser quantitativamente eluído. A eluição das resinas é realizada com ácido diluído. Se o volume de ácido utilizado para a eluição for significativamente inferior ao volume da amostra, será, assim, possível realizar,

simultaneamente, uma pré-concentração da amostra. No entanto, se os níveis de concentração de cátions metálicos forem suficientemente elevados para permitir a determinação da concentração total de cátion metálico na amostra antes e depois da equilibração com a resina, será preferível determinar a fracção lábil por diferença, o que permitirá reduzir os problemas de contaminação durante a eluição. Este método foi preferido por *Pesavento e Biesuz (1995)* para determinar, simultaneamente, a concentração de cátion metálico livre e a concentração total de cátion metálico em amostras sintéticas.

.

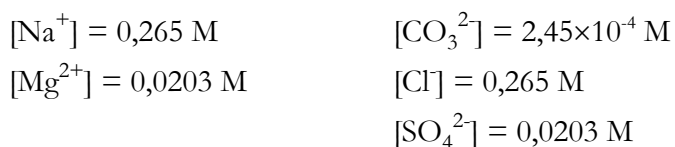
III.2. Detalhes experimentais usados no fracionamento de metais vestigiais em águas estuarinas

III.2.1. Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados durante a realização deste trabalho são todos de qualidade analítica: HEPES (ácido-*N*-2-hidroxiétilpiperazina-*N'*-2-etanosulfônico) (Sigma/Aldrich), 8-hidroxiquinolina, ácido nítrico 65%, hidróxido de sódio, carbonato de sódio, nitrato de sódio, ácido clorídrico 37 %, óxido de manganês (IV), EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético), NTA (ácido nitrilotriacético) e ácido cítrico (todos da Merck) e soluções padrão de diversos metais BDH Spectrosol (1000 ppm).

Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura obtida de um sistema Milli-Q, Millipore.

A solução sintética de água do mar, de salinidade 26, usada neste trabalho, tem a seguinte composição:



Para preparar a solução sintética de água do mar, de salinidade 13, a solução anterior foi diluída com água ultrapura (factor de diluição: 2).

Quando necessário, certas soluções foram purificadas para remover iões metálicos pesados presentes como impurezas. A purificação foi conseguida por contacto com uma suspensão de MnO_2 (5 mg.L^{-1}) durante, pelo menos, 24 horas (*van den Berg e Kramer, 1979*), seguida de filtração através de uma membrana de acetato de celulose de $0,45 \mu\text{m}$ de diâmetro de poro (Millipore Corporation).

III.2.2. Amostras de águas naturais

As amostras de águas naturais usadas neste trabalho são provenientes do Largo do Laranjo situado numa zona considerada poluída da Ria de Aveiro. As amostras foram recolhidas em frascos de plástico previamente lavados com ácido nítrico (4 M) e filtradas sob membrana Millipore ($0,45 \mu\text{m}$). As amostras foram depois divididas em duas alíquotas sendo uma delas usada directamente (sem qualquer tratamento) para a determinação do fraccionamento do cobre, do cádmio e do chumbo e a outra foi acidificada com HCL (1M) e conservada a 4°C . Esta alíquota foi posteriormente utilizada para determinar a concentração total de cobre, cádmio e chumbo nas amostras de água.

III.2.3. Lavagem do material

O material usado na preparação e armazenamento de soluções, bem como as células electroquímicas e seus acessórios, os frascos de polietileno e as unidades de filtração foram lavados de acordo com os procedimentos usuais de forma a prevenir contaminação com iões metálicos. Após uma lavagem de 24 horas com detergente aniónico (Decon 90) e passagem por água destilada, o material de vidro foi colocado numa solução de ácido nítrico 4 M durante 24 horas e, em seguida, passado por água ultrapura.

III.2.4. Instrumentação e procedimento geral utilizado nos métodos voltamétricos

III.2.4.1. Instrumentação

Nos estudos voltamétricos, foram utilizados os analisadores electroquímicos *BAS 100B/W* (Bioanalytical Systems) ou *Autolab PGSTAT 12*, ambos ligados a um computador com o software *BAS 100W- versão 2.1 (1995)* e *GPES – versão 4.7*, respectivamente.

O eléctrodo utilizado neste trabalho foi o eléctrodo de gota de mercúrio e os filmes de mercúrio. Usou-se para esse efeito o stand *PAR 303A (EG&G/PAR)* no caso do analisador electroquímico *BAS 100B/W* e o stand *663 VA Stand (Metrohm)* no caso do analisador electroquímico *Autolab*. Em ambos os casos, funcionou-se no modo HMDE com tamanho de gota médio. O eléctrodo auxiliar foi um fio de Pt e o eléctrodo de referência o de Ag/AgCl (KCl sat.). No *PAR 303A*, foi utilizado o agitador magnético *PAR 305* controlado pelo próprio analisador electroquímico.

O eléctrodo de referência utilizado em todo este trabalho foi o eléctrodo de Ag/AgCl (K sat.) pelo que todos os potenciais referidos neste trabalho são relativos a este eléctrodo.

As células electroquímicas, em borossilicato de sódio, usadas neste trabalho foram as fornecidas com o equipamento.

O sistema de irradiação utilizado para destruir a matéria orgânica presente nas amostras de água é constituído por 4 lâmpadas de ultravioleta (15 Watts cada).

III.2.4.2. Procedimento Geral

As soluções a ensaiar (volume de 9-10 mL no stand *PAR* ou 20 mL no stand *Metrohm*) foram colocadas na célula voltamétrica e desarejadas com N₂ (R) durante pelo menos 10 minutos no caso do stand *PAR*. No caso do stand *Metrohm*, o sistema de desarejamento é mais eficiente sendo suficiente 5 minutos de desarejamento.

Em todos os estudos foram registados três voltamogramas réplica para cada conjunto de parâmetros experimentais. O voltamograma do electrólito suporte foi também registado e posteriormente subtraído do voltamograma da solução teste. Os parâmetros característicos das funções de potencial aplicadas dependem não só da técnica, mas, também, do ensaio em si

mesmo e serão discriminados ao longo do texto no capítulo de apresentação dos resultados. Os valores característicos dos voltamogramas ($E_{1/2}$, I_p , etc...) são determinados automaticamente ou manualmente no analisador após definição da melhor linha de base do pico voltamétrico.

O procedimento experimental geral usado no caso do AdCSV foi o seguinte:

- i) 10 ou 20 mL de amostra (nos estudos de optimização foram usadas soluções sintéticas);
- ii) adiciona-se um volume de oxina concentrada (0,01 M) para que a solução ficasse 10^{-5} M em concentração final;
- iii) adiciona-se um volume de HEPES concentrado purificado (0,01 M) para que a solução fique $1,00 \times 10^{-4}$ M em concentração final;
- iv) quando se trata de soluções sintéticas ou quando se realiza rectas de calibração, adiciona-se um determinado volume de solução de padrão misto de cobre, cádmio e chumbo de modo a obter a concentração pretendida;
- v) regista-se o voltamograma.

No caso do ASV, é apenas necessário medir o volume desejado de amostra, adicionar o volume de padrão misto e registar o voltamograma.

Quando foram realizadas rectas de calibração, realizou-se uma purga de 30 s após cada adição de metal. As rectas de calibração são realizadas pela metodologia de adição sucessiva de padrão.

III.2.4.3. Determinação da intensidade dos picos nos voltamogramas obtidos por ASV e AdCSV

Na maior parte dos voltamogramas a intensidade dos picos foi determinada automaticamente usando o “software” de tratamento de dados fornecido com o equipamento. No entanto, em certos casos em que a linha de base era mais distorcida ou que os picos estavam mal definidos, foi necessário determinar manualmente a intensidade de cada pico.

Os exemplos apresentados na Figura III.2.1 resumem os principais casos encontrados.

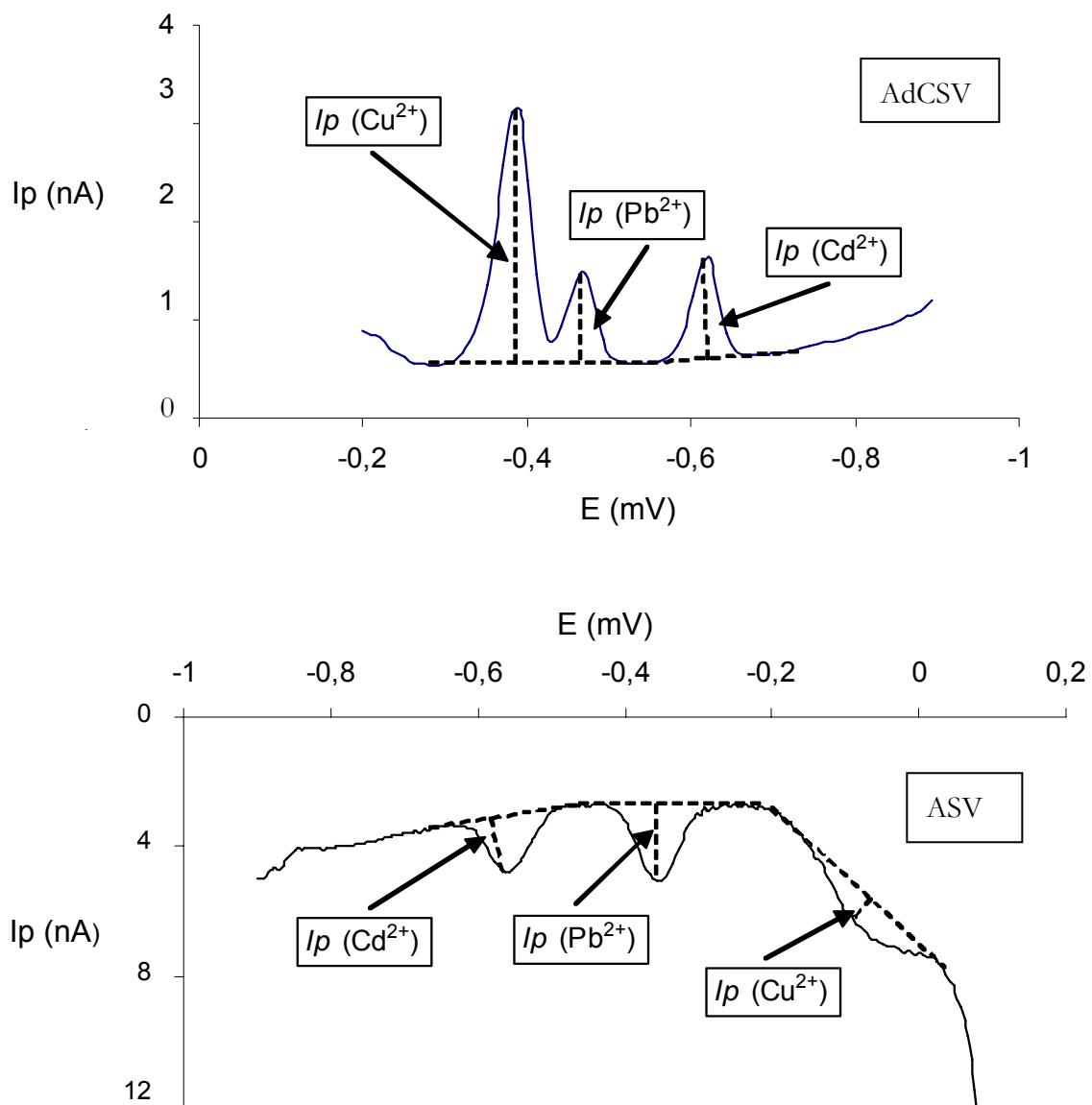


Figura III.2.1: Determinação da intensidade dos picos nos voltamogramas obtidos por AdCSV e ASV.

III.2.5. Procedimento geral utilizado no método de extracção em fase sólida

III.2.5.1. Lavagem das resinas

As resinas utilizadas neste trabalho foram a Chelex 100 (50-100 mesh) fornecida na forma Na^+ pela Bio-Rad e a Amberlite CG-50 (100-200 mesh) fornecida na forma Na^+ pela Sigma-Aldrich. Numa primeira fase, a resina deverá ser transformada na sua forma protonada e purificada para eliminar os catiões metálicos presentes como contaminantes.

Para esse efeito utiliza-se HCl (2 M) e procedeu-se da forma que se apresenta de seguida.

- i) Colocou-se uma massa definida de resina junto com um volume definido de ácido clorídrico 2M num erlenmeyer. No caso, das resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50, procedeu-se com 10 g de resina para 550 mL de ácido; no caso da Dowex 50W-X8, realizou-se uma lavagem prévia com metanol, de modo a eliminar qualquer vestígio de matéria orgânica e só depois, misturou-se 100 g de resina com 1 litro de ácido.
- ii) Deixou-se sob agitação durante a noite (agitação magnética).
- iii) No dia seguinte, decantou-se a resina eliminando-se assim o excesso de HCl
- iv) Lavou-se a resina várias vezes com água ultrapura até o pH da água de lavagem ter um valor perto de 6,0.
- v) Filtrou-se a resina por membrana 0,45 μm , transferiu-se para um vidro de relógio e colocou-se na estufa a 40°C.
- vi) Foi-se controlando a secagem por pesagem até obter um valor constante.

As resinas podem rapidamente ser regeneradas para serem re-utilizadas seguindo o mesmo procedimento.

A transformação das resinas para as formas Na^+ ou $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ foi realizada da mesma forma que para a passagem a forma protonada sendo a solução de ácido substituída por uma solução de NaNO_3 (2M) ou por uma solução sintética de água salgada.

III.2.5.2. Procedimento de base

Em todos os estudos realizados com resinas, o procedimento de base foi o seguinte:

- i) Começou-se por pesar uma massa definida de resina em frascos de plástico (polietileno de alta densidade); A massa de resina utilizada depende da resina usada e do volume de amostra.
- ii) A cada frasco, adicionou-se um volume definido de solução.
- iii) agitou-se esta mistura por agitação rotativa durante um certo tempo (o tempo de agitação necessário foi um dos parâmetros estudados).
- iv) Filtrou-se a solução contida em cada frasco de modo a separar a resina. Utilizou-se para esse efeito um funil de prego. Após remoção da resina, mediu-se o pH da solução (pH de equilíbrio). Nos casos em que se procedeu a eluição da resina, esta foi transferida para frascos de plástico, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e de 15 mL de ácido de eluição (ácido nítrico 1M).
- v) Os frascos contendo a resina e o ácido de eluição foram agitados durante um tempo superior a uma hora.
- vi) Para separar a resina do eluente filtrou-se a solução com um filtro (membrana 0,45 μm) adaptado numa seringa e recuperou-se o eluente para determinação posterior da concentração de metais extraídos pela resina, por Espectrofotometria de Absorção Atómica em Chama ou por Voltametria de Redissolução Anódica.
- vii) A resina foi toda transferida com água ultrapura para um frasco, tendo sido posteriormente recuperada.

III.2.5.3. Determinação da concentração de metais por F-AAS e ASV no ácido de eluição das resinas

A determinação da concentração de cobre, de cádmio, de chumbo no ácido de eluição foi realizada por F-AAS ou por ASV segundo os níveis de concentração em metais considerados.

No caso da F-AAS, a determinação da concentração dos metais foi obtida por calibração com 5 padrões. Os padrões foram preparados na mesma matriz que as amostras. O coeficiente de correlação r das rectas de calibração tinha sempre um valor igual ou superior a 0,998. Realizaram-se sempre 5 réplicas de cada medição e usou-se o valor médio.

No caso da ASV, a determinação da concentração dos metais foi realizada por calibração pelo método de adição de padrão a um dos brancos de extracção tendo-se realizado 5 adições de padrão. O coeficiente de correlação r destas rectas de adição padrão tinha sempre um valor igual ou superior a 0,998. Realizaram-se sempre 5 réplicas de cada medição e usou-se o valor médio.

III.2.6. Tratamento estatístico dos resultados

O limite de detecção das técnicas analíticas foi determinado como sendo igual a 3 vezes o desvio padrão do branco.

Os valores dos desvio padrão S_a e S_b dos parâmetros a e b da equação $y = bx + a$ de uma recta de calibração foram determinados usando as formulas seguintes (Miller e Miller, 1993):

$$S_a = S_{y/x} \left\{ \frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (\text{III.2.1})$$

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\left\{ \sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right\}^{\frac{1}{2}}} \quad (\text{III.2.2})$$

em que

$$S_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \overleftarrow{y}_i)^2}{n - 2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (\text{III.2.3})$$

onde \overleftarrow{y}_i é o valor de y calculado com a recta de calibração, n o numero de pontos da recta e \bar{x} o valor médio de x .

O intervalo de confiança do valor de a e b é portanto dado respectivamente por $a \pm tS_a$ e $b \pm tS_b$ onde t corresponde ao valor tabelado do t de *Student* que pode ser escolhido para um determinado nível de confiança e para $(n-2)$ graus de liberdade (Miller e Miller, 1993).

O intervalo de confiança para os valores de concentração x calculados a partir das respectivas rectas de calibração foi determinado usando a seguinte formula (Miller e Miller, 1993):

$$x \pm tS_x \quad (\text{III.2.4})$$

Com

$$S_x = \frac{S_{y/x}}{b} \left\{ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (\text{III.2.5})$$

onde m é o número de leituras, \bar{y} , o valor médio de y (valores de y usados na recta de calibração, x , a concentração da amostra, y_0 , o valor médio do sinal obtido para a amostra e o t o parâmetro de *Student* escolhido para $(n-2)$ graus de liberdade e o nível de confiança desejado. Neste trabalho todos os intervalos de confiança foram determinados com 95% de confiança.

III.3. Técnicas voltamétricas de fraccionamento de metais vestigiais em águas estuarinas: optimização dos métodos

III.3.1. Introdução

As duas técnicas voltamétricas utilizadas neste trabalho foram a *voltametria de redissolução anódica* (ASV) e a *voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva* (AdCSV) com o *eléctrodo de gota de mercúrio suspensa* (HMDE).

A AdCSV é uma técnica usada por vários autores (*Colombo e van den Berg, 1997; Collado-Sánchez et al., 1996; Jin e Gogan, 2000; van den Berg, 1986*) para determinar o fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais. No entanto, os parâmetros experimentais utilizados em cada um desses trabalhos variam bastante. No presente trabalho, foram optimizados vários parâmetros experimentais da AdCSV e, posteriormente, realizaram-se rectas de calibração em água salgada e em água doce para avaliar o efeito da matriz salgada sobre a sensibilidade da técnica.

No caso da ASV, estudou-se o efeito do tempo de acumulação e ainda da técnica electroanalítica utilizada no passo de redissolução. Foram depois realizadas várias rectas de calibração numa solução sintética de água salgada e comparou-se a sensibilidade da ASV e da AdCSV. A ASV foi posteriormente utilizada para determinar o fraccionamento de cobre, cádmio e chumbo em amostras de águas naturais.

III.3.2. Voltametria de redissolução catódica com acumulação adsortiva (AdCSV)

III.3.2.1. Efeito da concentração de oxina e do pH da solução estudada

A oxina, usada como ligando competitivo no método de AdCSV tem que estar sempre em grande excesso (perto de 1000 vezes) perante a concentração total de todos os outros catiões presentes em solução. No caso de estudos em água salgada, a concentração dos catiões maioritários Na^+ e Mg^{2+} não é tida em consideração, visto a constante de estabilidade dos complexos formados pela oxina e estes catiões metálicos ter um valor muito baixo em relação aos metais estudados (Cu(II) , Cd(II) e Pb(II)) (*Martell e Smith, 1973-1989*).

Variou-se a concentração de oxina de modo a determinar a concentração ideal para a determinação de Cu^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} por AdCSV. A corrente de redução do complexo formado com estes metais foi medida por AdCSV (DP) numa solução de água ultrapura com HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M)[#] e $[\text{Cu}^{2+}] = [\text{Cd}^{2+}] = [\text{Pb}^{2+}] = 1,00 \times 10^{-9}$ M; a acumulação foi feita durante 60 segundos em $E_{ac} = -1,1$ V seguido de um período de equilíbrio de 10 s ao potencial -0,15 V. Este valor de potencial de acumulação foi recomendado por *van den Berg (1986)* para a determinação de Cu^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} por AdCSV. Os resultados obtidos (média e desvio padrão de três réplicas) estão apresentados na Figura III.3.1.

Como é possível verificar, para concentrações de oxina entre $1,00 \times 10^{-5}$ e $2,00 \times 10^{-5}$ M, a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo não varia de maneira significativa. Este resultado está de acordo com os resultados obtidos por *Collado Sanchez et al.(1996)*, que também estudaram o efeito da concentração de oxina e mostraram que a concentração óptima de oxina encontra-se entre $6,0 \times 10^{-6}$ M e $16,0 \times 10^{-5}$ M. *van den Berg (1986)* recomenda, também, a utilização de concentrações de oxina entre $0,8 \times 10^{-5}$ e $2,0 \times 10^{-5}$ M para a determinação de cobre, cádmio e chumbo em águas do mar.

Pode, então, concluir-se que a concentração de oxina no intervalo $[1,00 \times 10^{-5} - 2,00 \times 10^{-5} \text{M}]$ não tem qualquer influência sobre os resultados obtidos. Em todo este trabalho foi utilizada uma

[#] Nota: Esta concentração de tampão HEPES foi recomendada por *Colombo e van den Berg (1997)*. A utilização deste tampão nesta concentração permite manter o pH a um valor próximo de 7,7.

concentração de oxina igual a $1,00 \times 10^{-5}$ M. Preferiu-se, assim, usar uma concentração de oxina mais baixa, a qual permite eliminar a interferência do pico de redução da própria oxina que pode aparecer para concentrações mais elevadas e interferir com o pico do cádmio (*van den Berg, 1986*), embora esta interferência nunca tenha sido observada no presente trabalho.

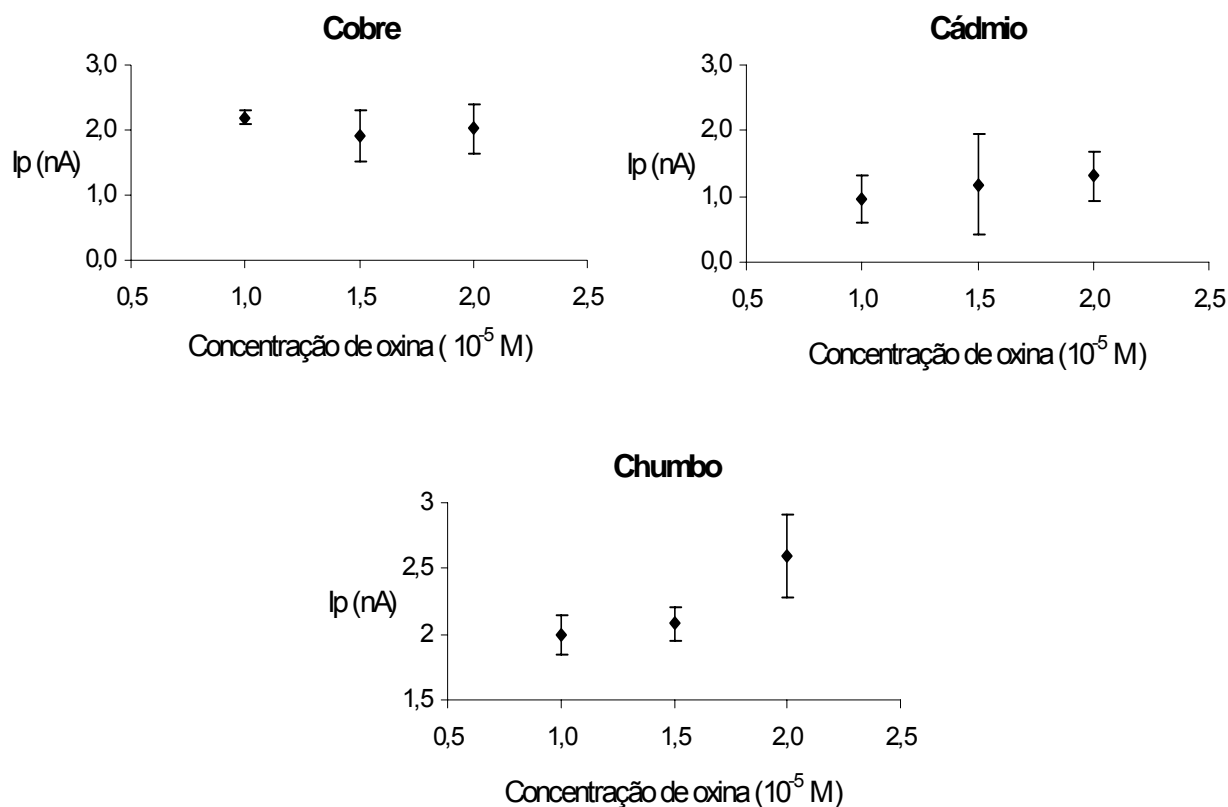
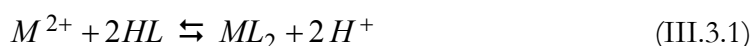


Figura III.3.1: Efeito da concentração de oxina sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo numa solução $1,00 \times 10^{-4}$ M em HEPES e $1,00 \times 10^{-9}$ M em Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} . Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.

Outro factor a ter em consideração é o pH da solução estudada. Efectivamente, de acordo com a equação (III.3.1) que descreve a formação do complexo metal-oxina, o complexo metal-oxina é mais estável para concentrações baixas de H^+ .



No entanto, para valores de pH muito elevados (superiores a 9), os iões OH^- poderão competir com a oxina pela complexação dos cátions metálicos, nomeadamente no caso do chumbo e do cobre.

No método proposto por *van den Berg (1986)*, o pH recomendado é igual a 7,7. Ao longo deste trabalho, verificou-se que sempre que o pH da solução estudada é superior ou inferior a este valor, o valor da intensidade dos picos de redução do cobre, cádmio e chumbo diminui. Por essa razão, utilizou-se o tampão HEPES que permite manter as soluções a valores de pH próximos de 7,6-7,8. Contudo, este tampão não é suficientemente forte para ajustar o pH das soluções a estes valores. Foi, portanto, necessário ajustar o pH da solução estudada a um valor próximo de 7,7 por adição prévia de NaOH. Note-se que este valor de pH é muito próximo dos valores que se encontram habitualmente nas águas naturais, pelo que a variação de pH é quase sempre mínima e este ajuste de pH pouco afectará a especiação dos metais estudados presentes na amostra.

III.3.2.2. Efeito do potencial de acumulação E_{ac} e do potencial inicial de varrimento E_i

Nesta secção, avaliou-se o efeito do potencial de acumulação e do potencial inicial de varrimento sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por AdCSV (DP). Utilizou-se uma solução preparada em água ultrapura com oxina ($1,00 \times 10^{-5}$ M), HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M) e $[\text{Cu}^{2+}] = [\text{Cd}^{2+}] = [\text{Pb}^{2+}] = 16,7 \times 10^{-9}$ M. Usou-se um tempo de acumulação de 60 segundos e um tempo de equilibração de 10 segundos. Os dois potenciais de acumulação comparados foram -1,1 V e -0,15 V com potenciais iniciais de varrimento iguais a -0,15 V e -0,43 V para cada um dos E_{ac} . Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela III.3.1 (média e desvio padrão de três réplicas) e na Figura III.3.2.

Como é possível verificar na Figura III.3.2, os complexos formados pela oxina com o Cu(II) e o Pb(II) têm potenciais de redução muito próximos ($E_{\text{Cu/ox}} = -0,41$ V; $E_{\text{Pb/ox}} = -0,49$ V), o que pode provocar, em certos casos, uma sobreposição dos picos de chumbo e cobre ou uma deformação do pico do chumbo. De modo a tentar definir com mais rigor o pico do chumbo, o início do varrimento de potenciais pode ser feito em -0,43 V, após o sinal do cobre.

Tabela III.3.1: Efeito do potencial de acumulação e do potencial inicial de varrimento sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por AdCSV (DP) numa solução $1,00 \times 10^{-5}$ M em oxina, $1,00 \times 10^{-4}$ M em HEPES e $16,7 \times 10^{-9}$ M em Cu^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} . Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.

	Cobre	Chumbo	Cádmio
$E_{ac} = -1,1$ V $E_i = -0,15$ V	$(39,1 \pm 0,2)$ nA	$(5,86 \pm 1,21)$ nA	$(5,41 \pm 1,33)$ nA
$E_{ac} = -1,1$ V $E_i = -0,43$ V		$(7,28 \pm 0,39)$ nA	$(2,84 \pm 0,33)$ nA
$E_{ac} = -0,15$ V $E_i = -0,15$ V	$(43,8 \pm 0,5)$ nA	$(1,16 \pm 0,07)$ nA	$(5,27 \pm 0,01)$ nA
$E_{ac} = -0,15$ V $E_i = -0,43$ V		$(1,83 \pm 0,09)$ nA	$(0,67 \pm 0,22)$ nA

Segundo a Tabela III.3.1, quando a acumulação é feita a um potencial mais negativo (-1,1 V), a intensidade dos picos de cádmio e chumbo é sempre maior, qualquer que seja o potencial inicial de varrimento. No caso do cobre, os picos obtidos quando a acumulação é feita a -0,15 V têm maiores intensidades do que os picos obtidos com $E_{ac} = -1,1$ V. No entanto a diferença entre os dois casos é apenas de 10 %, portanto, será mais vantajoso realizar a acumulação dos metais a -1,1 V quando se pretende estudar os três metais em simultâneo. *Jin e Gogan (2000)*, num estudo da complexação do cobre, usaram também um potencial de acumulação de -1,1 V. Este valor de potencial de acumulação foi recomendado por *van den Berg (1986)* para determinação de cobre, cádmio e chumbo em água do mar por AdCSV com oxina. Nestas condições, parte dos cátions metálicos complexados pelo ligando competitivo podem ser reduzidos a amalgama pela aplicação deste potencial de acumulação. Durante a etapa de equilibração a potenciais mais positivos, o metal vai ser re-oxidado no eléctrodo de mercúrio e será, depois, novamente complexado pela oxina adsorvida na superfície do electrodo (*Jin e Gogan, 2002*).

Por outro lado, no caso do chumbo, o potencial inicial de varrimento também teve influência sobre a intensidade do pico. Efectivamente, este pico tem maior intensidade quando o varrimento é iniciado logo após o potencial de redução do complexo oxina/cobre ($E_i = -0,43$ V). Contudo, observa-se uma diminuição considerável da intensidade do pico de cádmio quando o varrimento é iniciado a -0,43 V. Logo, nos casos em que os picos do cobre e do chumbo se encontram sobrepostos, poderá ser interessante usar um valor de E_i igual a -0,43 V

para determinar o pico do chumbo sendo, no entanto, preferível determinar o pico de cádmio com $E_i = -0,15$ V.

Pode, então, concluir-se que o melhor potencial para a acumulação no eléctrodo de mercúrio dos 3 metais estudados é igual a $-1,1$ V. O potencial inicial de varrimento indicado para a determinação simultânea dos 3 metais é $E_i = -0,15$ V. No entanto, um potencial inicial igual a $-0,43$ V poderá ser utilizado para definir melhor o pico do chumbo.

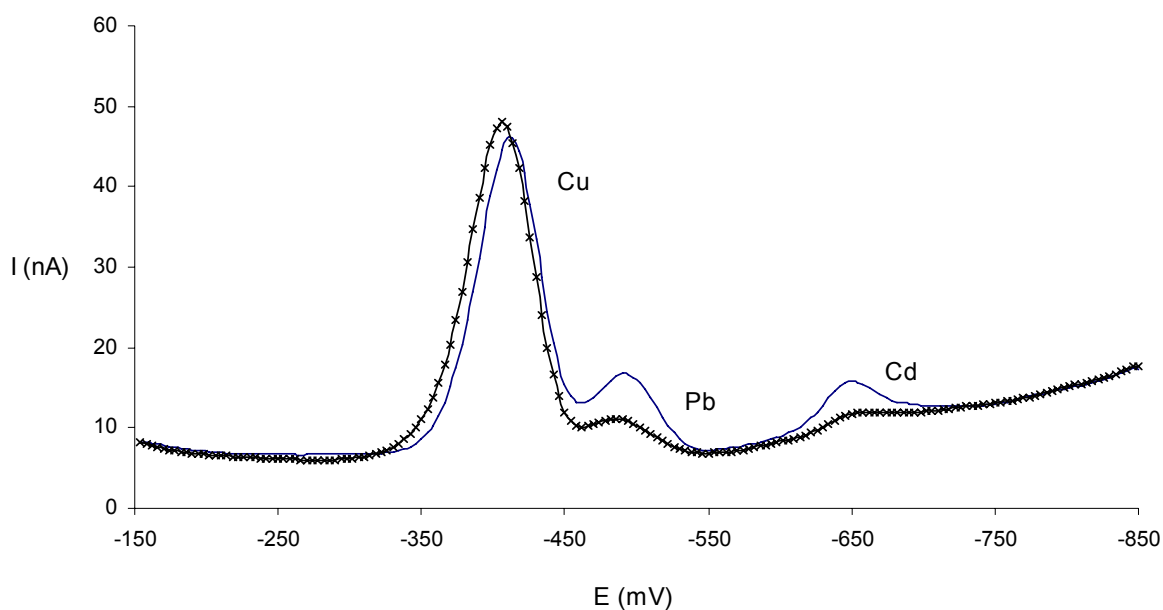


Figura III.3.2: Voltamogramas obtidos por AdCSV (DP) para uma solução $1,00 \times 10^{-5}$ M em oxina, $1,00 \times 10^{-4}$ M em HEPES e $16,7 \times 10^{-9}$ M em Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} com $E_{ac} = -0,15$ V (*-*-**) ou $-1,1$ V (—); $t_{ac} = 60$ s; $E_i = -0,15$ V.

III.3.2.3. Efeito do tempo de acumulação

O efeito do tempo de acumulação do metal no eléctrodo de mercúrio foi avaliado por AdCSV (DP) numa solução preparada em água ultrapura com oxina ($1,00 \times 10^{-5}$ M), HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M) e $[\text{Cu}^{2+}] = [\text{Cd}^{2+}] = [\text{Pb}^{2+}] = 5,58 \times 10^{-9}$ M. O potencial de acumulação utilizado foi $-1,1$ V seguido de 10 s de equilíbrio e início do varrimento em $E_i = -0,15$ V. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura III.3.3.

No caso do cobre, a intensidade do pico aumenta linearmente entre 60 e 180 segundos de acumulação para depois atingir um patamar para tempos de acumulação superiores a 420 segundos. Logo, é possível deduzir que, para tempos de acumulação superiores a 420 segundos, a superfície da gota fica saturada em complexo Cu/oxina. No caso do chumbo, a intensidade do pico aumenta de forma mais ou menos linear em toda a gama de tempo aqui estudada ([60-900 segundos]). Da mesma forma, a intensidade do pico do cádmio aumenta linearmente com o tempo de acumulação até 600 segundos. É ainda de salientar que, quando o tempo de acumulação passa de 60 para 180 segundos, a intensidade do pico é multiplicada por 5 no caso do chumbo e apenas por 3 no caso do cádmio e do cobre.

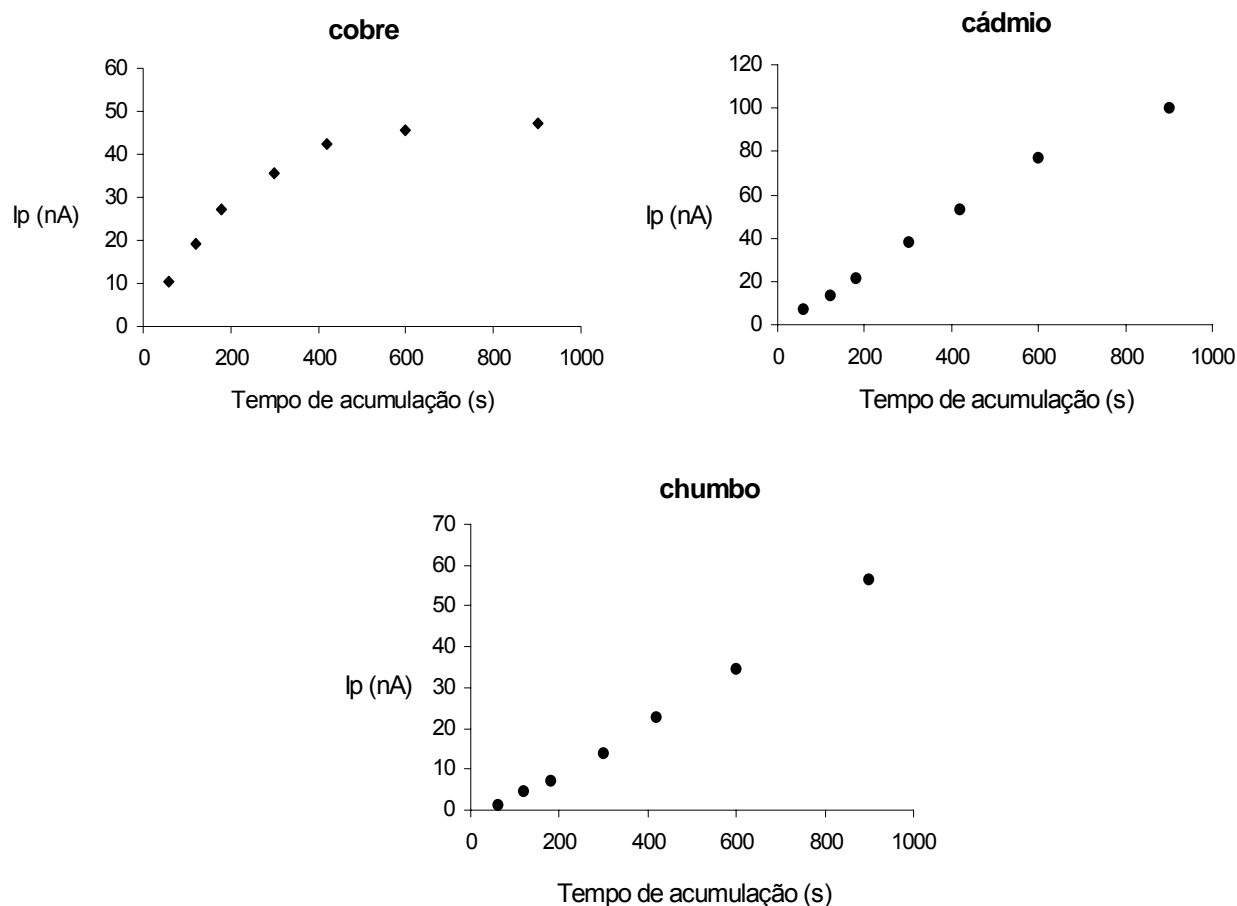


Figura III.3.3: Efeito do tempo de acumulação sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por AdCSV (DP) numa solução de água ultrapura com oxina ($1,00 \times 10^{-5}$ M), HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M) e $[Cu^{2+}] = [Cd^{2+}] = [Pb^{2+}] = 5,58 \times 10^{-9}$ M.

Estas diferenças entre metais poderão ser atribuídas à capacidade de adsorção do complexo catião metálico/oxina na gota de mercúrio que, segundo *van den Berg (1986)*, é muito maior no caso do complexo Cu(II)/oxina do que no caso dos complexos Pb(II)/oxina e Cd(II)/oxina.

A principal vantagem de aumentar o tempo de acumulação é a de poder obter uma maior sensibilidade. No entanto, como foi visto no caso do cobre, para tempos de acumulação muito longos, poderá ocorrer a saturação do eléctrodo. Por outro lado, é sempre conveniente reduzir o mais possível o tempo de análise de modo a evitar a adsorção de matéria orgânica no eléctrodo, nomeadamente no caso de amostras naturais que possam conter quantidades elevadas de matéria orgânica (ver Anexo I). Por esta razão, usaram-se tempos de acumulação de 60 ou 120 segundos em todos os restantes trabalhos.

III.3.2.4. Efeito da técnica electroanalítica usada na etapa de redissolução

Como já foi referido, a técnica electroanalítica utilizada na etapa de redissolução pode ter efeito sobre a qualidade dos resultados obtidos por AdCSV. Realizaram-se vários ensaios de forma a determinar qual das duas técnicas, onda quadrada (SW) ou diferencial por impulsos (DP) permite obter os melhores resultados. Foram utilizadas soluções preparadas em água ultrapura ou uma solução sintética de água salgada, ambas com oxina ($1,00 \times 10^{-5}$ M) e HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M; pH=7,7) e várias concentrações em Cu^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} . As condições experimentais utilizadas estão descritas na Tabela III.3.2.

Tabela III.3.2: Condições experimentais usadas no estudo de comparação entre a AdCSV(DP) e a AdCSV (SW).

Parâmetros experimentais	AdCSV (DP)	AdCSV (SW)
E_{ac} (V)	-1,1	-1,1
t_{ac} (s)	120	120
E_i (V)	-0,15	-0,15
E_f (V)	-0,9	-0,9
t_{eq} (s)	20	20
Velocidade de varrimento (V/s)	0,02	0,8

A Figura III.3.4 mostra os resultados obtidos com uma solução preparada em água ultrapura. De uma forma geral, a intensidade dos picos do cobre, cádmio e chumbo é muito maior quando é utilizada a SW. Este efeito é muito mais acentuado no caso do cádmio em que os picos obtidos com SW tem uma intensidade 15 vezes superior à dos picos obtidos por DP. No entanto, no caso do chumbo, não foi possível determinar nenhum pico por SW para a concentração mais baixa.

Os voltamogramas obtidos para a mesma solução, com as duas técnicas aqui comparadas estão apresentados na Figura III.3.5. Como é possível verificar, os picos estão muito melhor definidos no caso do DP do que no caso do SW. Por outro lado, os voltamogramas obtidos por SW apresentam sempre muito ruído de fundo, o que torna ainda mais difícil a definição dos picos. Em conclusão, a técnica diferencial por impulsos, apesar de dar origem a picos de menor intensidade, permite definir com mais qualidade os picos dos três metais estudados, sendo por isso preferida esta técnica electroanalítica.

Os resultados do mesmo estudo realizado numa solução sintética de água salgada estão apresentados na Figura III.3.6. Como no caso da água ultrapura, a intensidade dos picos obtidos por SW é muito maior mas no caso do cádmio e do chumbo só foi possível definir picos para a maior concentração estudada. Os voltamogramas obtidos com SW apresentam, ainda, muito ruído de fundo e os picos dos 3 metais estudados estão muito melhor definidos quando é utilizada a DP. Estes resultados vêm, assim, confirmar as conclusões anteriores. Logo, todos os trabalhos executados com AdCSV foram realizados utilizando a técnica analítica diferencial por impulsos.

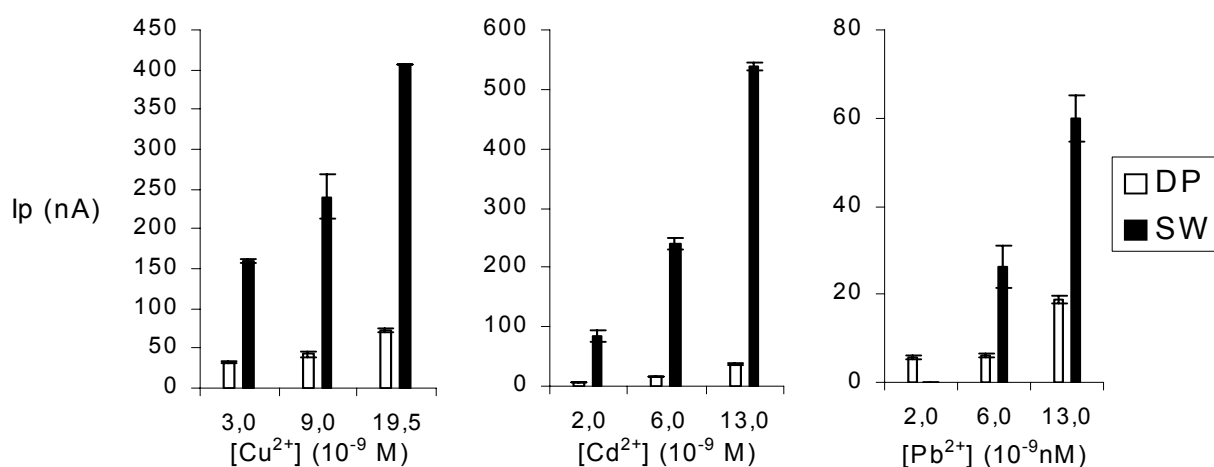


Figura III.3.4: Comparação da intensidade dos picos obtidos por AdCSV com DP ou SW no caso do cobre, cádmio e chumbo em água ultrapura (média de três réplicas e o desvio padrão respectivo).

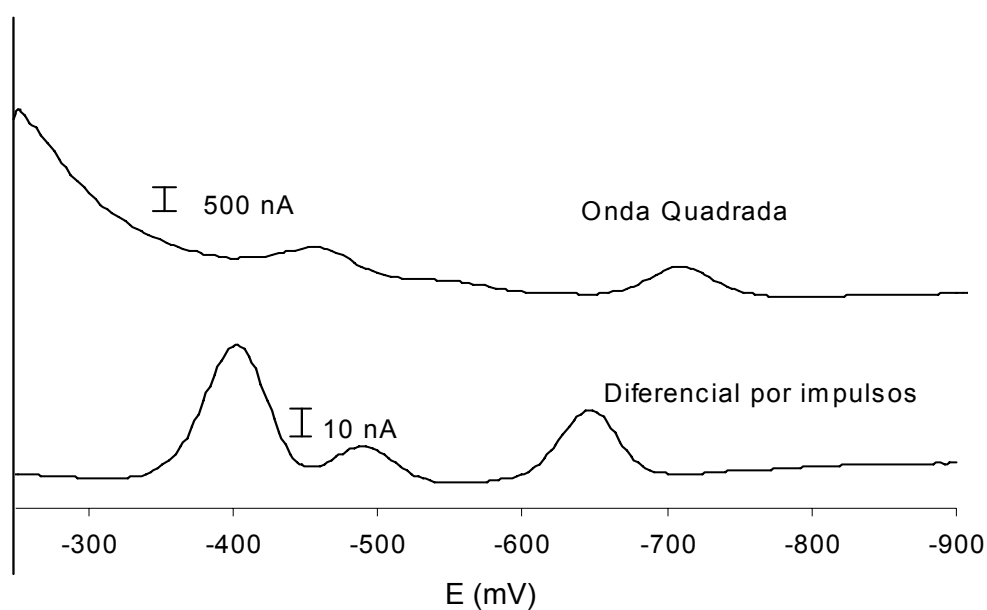


Figura III.3.5: Voltamogramas obtidos por AdCSV usando a técnica de redissolução de onda quadrada ou diferencial por impulsos para uma solução $19,5 \times 10^{-9}$ M de Cobre e $13,0 \times 10^{-9}$ M de cádmio e chumbo.

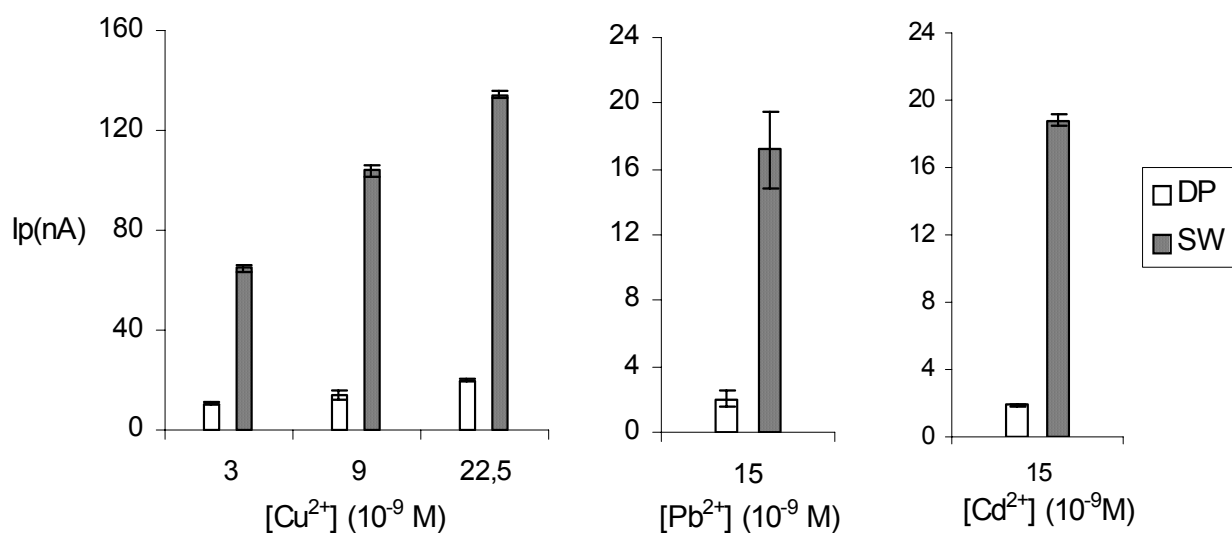


Figura III.3.6: Comparação da intensidade dos picos obtidos por AdCSV com DP ou SW no caso do cobre, cádmio e chumbo em água salgada. Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.

III.3.2.5. Efeito da velocidade de varrimento na etapa de redissolução por DP

A velocidade de varrimento utilizada na etapa de redissolução é um parâmetro muito importante. Efectivamente, quanto maior a velocidade de varrimento de potenciais, maior será a intensidade de corrente dos picos mas menor será a definição dos sinais. Por outro lado, o produto de redução da oxina pode dar origem a um pico que aparece à potenciais mais negativos dos que o potencial de redução do complexo Cd(II)/oxina. No entanto, a cinética de redução deste composto é muito lenta, devendo só aparecer para velocidades de varrimento mais baixas. Assim, a escolha da velocidade de varrimento deverá ter em consideração estas duas condicionantes.

Realizaram-se vários voltamogramas, com duas velocidades de varrimento dos potenciais, de forma a avaliar o efeito deste parâmetro sobre os resultados obtidos. Procedeu-se numa solução preparada em água ultrapura com oxina ($1,00 \times 10^{-5}$ M), HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M; pH=7,7) e $[Cd^{2+}] = [Pb^{2+}] = 9,88 \times 10^{-9}$ M com os seguintes parâmetros experimentais: $E_{ac} = -1,1$ V; $t_{ac} = 60$ s; $E_i = -0,35$ V; $E_f = -0,85$ V; $t_{eq} = 20$ s. Os resultados obtidos estão na Tabela III.3.3.

Tabela III.3.3: Variação da intensidade dos picos de chumbo e cádmio obtidos por AdCSV com a velocidade de varrimento. Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.

Velocidade de varrimento	Ip – Chumbo (nA)	Ip – Cádmio (nA)
0,02 V/s	$9,05 \pm 0,57$	$18,92 \pm 0,92$
0,01 V/s	$7,58 \pm 0,28$	$16,32 \pm 0,39$

A diminuição da velocidade de varrimento induz uma diminuição da intensidade do pico de 15 % no caso do chumbo e de 13 % no caso do cádmio. Por outro lado, como é possível observar na Figura III.3.7, quando a velocidade de varrimento é mais baixa, aparece um pico após o sinal do cádmio que poderá ser devido a reacções secundárias, nomeadamente a redução da oxina (*van den Berg, 1986*).

O caso do cobre não foi aqui considerado. No entanto, O valor da velocidade de varrimento utilizada em estudos de determinação do cobre por AdCSV varia bastante de um autor para

outro. Assim, *Jin e Gogan (2000)* utilizaram uma velocidade de varrimento de 0,5 mV/s enquanto que *Colombo e van den Berg (1997)* usaram um valor mais elevado, igual a 36,6 mV/s.

Com base nos resultados obtidos e nos outros trabalhos acima referidos, optou-se por usar uma velocidade de varrimento de 20 mV/s.

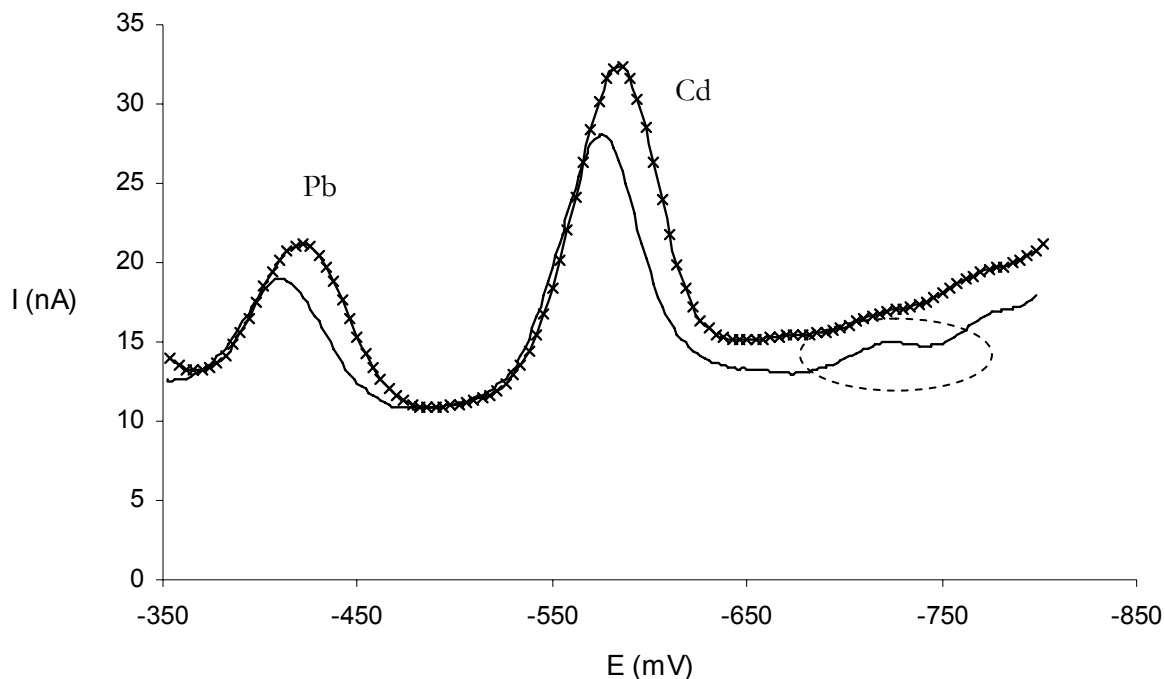


Figura III.3.7: Voltamogramas de uma solução $9,88 \times 10^{-9}$ M em cádmio e chumbo obtidos por AdCSV (DP) com duas velocidades de varrimento: 20 mV/s (*-*-**) e 10 mV/s (—).

III.3.2.6. Rectas de calibração

Após ter sido estudado o efeito de vários parâmetros experimentais sobre os resultados obtidos na determinação do Cu(II), Cd(II) e Pb(II) por AdCSV, foram realizadas rectas de calibração para estes 3 catiões metálicos em água ultrapura e numa solução sintética de água salgada. As condições experimentais utilizadas foram as seguintes: $E_{ac} = -1,1$ V; $t_{ac} = 120$ s; $E_i = -0,15$ V; $E_f = -0,85$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento = 0,02 V/s. Foi usada uma concentração de oxina igual a $1,00 \times 10^{-5}$ M com tampão HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M; pH = 7,7). Os intervalos de concentrações em catiões metálicos foram: Cu^{2+} : $[0 - 21,5 \times 10^{-9} \text{ M}]$,

Cd^{2+} : $[0 - 15,8 \times 10^{-9} \text{ M}]$ e Pb^{2+} : $[0 - 14,4 \times 10^{-9} \text{ M}]$. Realizaram-se sempre duas rectas em dias distintos mas mantendo as mesmas condições experimentais. Os resultados obtidos em água ultrapura apresentam-se na Tabela III.3.4 e na Figura III.3.8.

Tabela III.3.4: Resultados da calibração relativos a determinação de Cu(II), Cd(II) e Pb(II) em água ultrapura por AdCSV (DP). Condições experimentais: $E_{ac} = -1,1 \text{ V}$; $t_{ac} = 120 \text{ s}$; $E_i = -0,15 \text{ V}$; $E_f = -0,850 \text{ V}$; $t_{eq} = 20 \text{ s}$; velocidade de varrimento = $0,02 \text{ V/s}$; (l.d.d: limite de detecção).

Catião metálico	Declive $\pm S_b$ (A.M ⁻¹)	Ordenada na origem $\pm S_a$ (nA)	r (N)	l.d.d (M)
Cu^{2+}	$3,31 \pm 0,04$	$-0,18 \pm 0,56$	0,999 (7)	$0,7 \times 10^{-9}$
	$3,72 \pm 0,07$	$0,61 \pm 0,62$	0,999 (6)	$0,7 \times 10^{-9}$
Pb^{2+}	$2,14 \pm 0,05$	$-0,13 \pm 0,27$	0,999 (6)	$0,5 \times 10^{-9}$
	$2,95 \pm 0,04$	$-0,30 \pm 0,35$	0,999 (7)	$0,5 \times 10^{-9}$
Cd^{2+}	$3,67 \pm 0,05$	$(0,05 \pm 3,12) \times 10^{-1}$	0,999 (6)	$0,4 \times 10^{-9}$
	$1,71 \pm 0,04$	$0,10 \pm 0,29$	0,999 (5)	$0,8 \times 10^{-9}$

O valor do coeficiente de correlação obtido para os 3 metais é sempre superior a 0,998, sendo na maioria dos casos igual a 0,999. Pode, assim, concluir-se que a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo aumenta linearmente com a concentração, na gama de concentração estudada. Será, desta forma, possível usar este método de calibração para a determinação da concentração destes 3 metais vestigiais, em águas naturais. Contudo, os valores de declive obtidos para cada metal variam de forma significativa entre duas experiências realizadas em dias diferentes.

Os valores da intensidade dos picos de cobre, de cádmio e de chumbo obtidos apresentam pouca variabilidade entre réplicas. Efectivamente, o desvio padrão relativo calculado com 3 réplicas é geralmente inferior a 10 % mas poderá em certos casos, nomeadamente na determinação de cádmio com concentrações inferiores a $1 \times 10^{-10} \text{ M}$, ter valores próximos de 50 %, devido a fraca definição dos sinais.

Por outro lado, os valores de l.d.d., obtidos com as condições experimentais utilizadas neste trabalho, podem ser considerados satisfatórios tendo em conta que estes valores podem ser

diminuídos 5 vezes se se usar um tempo de acumulação de 600 s. Além disso, considerando os valores de declive obtidos e com base nos voltamogramas da Figura III.3.8, é possível concluir que a AdCSV é mais sensível para o cobre do que para o cádmio ou o chumbo. Este resultado esta de acordo com os resultados obtidos por outros autores (*Colombo e van den Berg, 1997; van den Berg, 1986*) e era, de um certo modo, previsível, uma vez que a capacidade de adsorção na gota de mercúrio do complexo cobre/oxina é superior a capacidade dos complexos cádmio/oxina ou chumbo/oxina.

As amostras de águas naturais analisadas neste trabalho são provenientes da Ria de Aveiro. Neste tipo de sistema natural, existe uma grande variação da salinidade ao longo do dia devido ao efeito das marés. Por essa razão, foram também realizadas rectas de calibração numa solução sintética de água salgada. Os resultados estão apresentados na Tabela III.3.5. Note-se que o pico do chumbo foi determinado iniciando o varrimento de potenciais em -0,4 V.

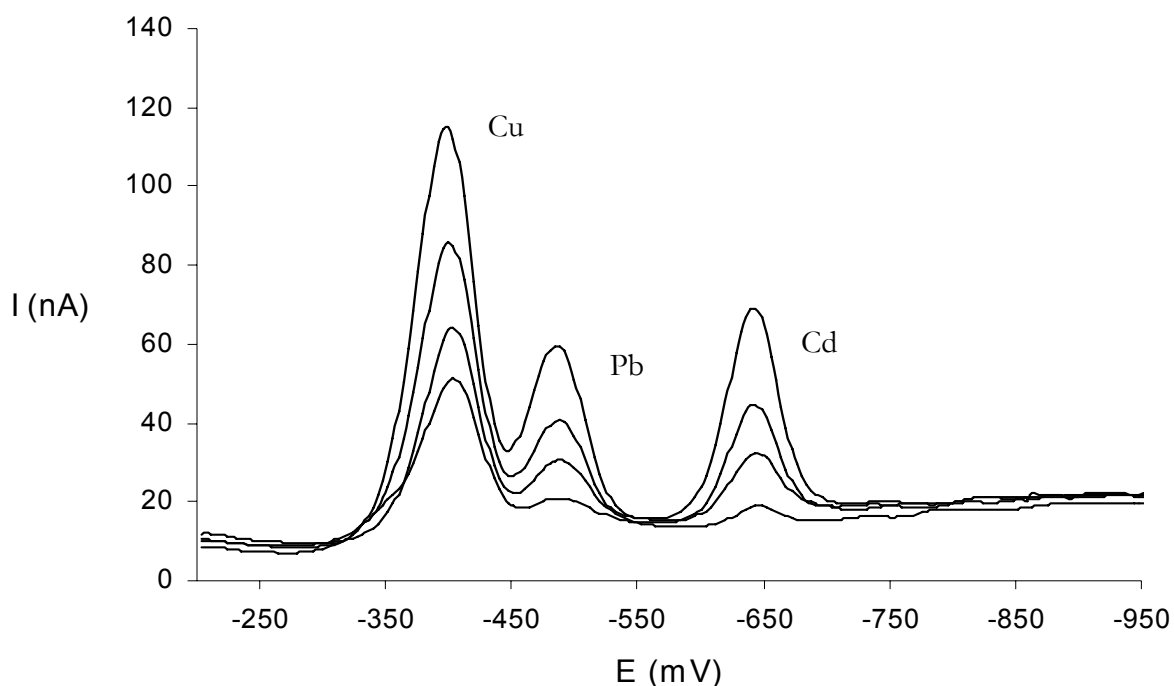


Figura III.3.8: Voltamogramas DP na análise por AdCSV de soluções de Cu(II), Cd(II) e Pb(II) em água ultrapura. Representaram-se alguns voltamogramas usados na construção duma curva de calibração. Condições experimentais: $E_{ac} = -1,1$ V; $t_{ac} = 120$ s; $E_i = -0,15$ V; $E_f = -0,85$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento = 0,02 V/s.

O valor do coeficiente de correlação obtido para os 3 metais é sempre igual a 0,999, excepto num caso em que o valor obtido foi de 0,998. Logo, é possível concluir-se que, para os três cátions metálicos estudados, existe uma relação linear entre a intensidade dos picos e a concentração na gama de concentração estudada.

O limite de detecção determinado no caso da água salgada apresenta valores com maior variabilidade do que no caso anterior. No entanto, os valores obtidos aqui são, de uma forma geral, inferiores aos valores obtidos no caso de soluções preparadas em água ultrapura. Por outro lado, os valores de l.d.d. obtidos com as condições experimentais usadas no presente trabalho são sensivelmente mais elevados do que os valores obtidos por outros autores, como por exemplo, *Colombo e van den Berg (1997)* que obtiveram valores de l.d.d de $0,42 \times 10^{-9}$ M (Cu), $0,086 \times 10^{-9}$ M (Pb) e $0,074 \times 10^{-9}$ M (Cd). Salienta-se, ainda, que podem ocorrer diferenças de sensibilidade devido a diferenças de equipamento (*Campos e van den Berg, 1994*).

Como no caso do l.d.d., os valores de declive aqui obtidos para o cobre e para o chumbo são inferiores aos valores obtidos no caso de uma solução preparada em água ultrapura. É de referir que existe, também, neste caso, uma certa variação do declive de um dia para outro. Pode, então, concluir-se que a matriz tem um efeito significativo sobre a sensibilidade do método na determinação do cobre, cádmio e chumbo.

Tabela III.3.5: Resultados da calibração relativos a determinação por AdCSV (DP) de Cu(II), Cd(II) e Pb(II) numa solução sintética de água salgada. $E_{ac} = -1,1$ V; $t_{ac} = 120$ s; $E_i = -0,15$ V ou $-0,4$ V; $E_f = -0,85$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento = $0,02$ V/s; (l.d.d:limite de detecção).

Catão metálico	Declive $\pm S_b$ (A.M ⁻¹)	Ordenada na origem $\pm S_a$ (nA)	r (N)	l.d.d (M)
Cu ²⁺	$1,23 \pm 0,01$	$-0,07 \pm 0,17$	0,999 (5)	$0,6 \times 10^{-9}$
	$1,21 \pm 0,03$	$0,09 \pm 0,41$	0,999 (5)	$0,5 \times 10^{-9}$
Pb ²⁺	$(1,30 \pm 0,02) \times 10^{-1}$	$0,03 \pm 0,02$	0,999 (5)	$0,7 \times 10^{-9}$
	$(0,84 \pm 0,03) \times 10^{-1}$	$0,04 \pm 0,02$	0,999 (6)	$1,2 \times 10^{-9}$
Cd ²⁺	$(5,29 \pm 0,05) \times 10^{-1}$	$(0,04 \pm 0,35) \times 10^{-1}$	0,999 (5)	$0,2 \times 10^{-9}$
	$(8,53 \pm 0,12) \times 10^{-1}$	$-0,14 \pm 0,10$	0,999 (5)	$0,2 \times 10^{-9}$

A diminuição da sensibilidade no caso da água salgada poderá ser atribuída a presença de cátions maioritários tais como o sódio ou o magnésio e de certos ligandos tais como o cloreto ou o carbonato. Efectivamente, poderá, haver uma diminuição da quantidade de cobre, cádmio e chumbo complexado pela oxina e, conseqüentemente, uma diminuição da sensibilidade. Por outro lado, a capacidade de adsorção dos complexos metal/oxina poderá, também, ser alterada pela presença de outros compostos na solução (competição de outros complexos).

Assim, no caso de uma solução sintética de água salgada, as diferenças de sensibilidade da AdCSV para os 3 metais aqui estudados são progressivas. Efectivamente, os valores de declive obtidos aumentam na sequência: $Pb(II) < Cd(II) < Cu(II)$. Já no caso de uma solução preparada em água ultrapura, a AdCSV (DP) é mais sensível para o $Cu(II)$ do que para os outros dois cátions metálicos. Como já foi referido, o facto da maior sensibilidade ocorrer sempre para o cobre dever-se-á à capacidade de adsorção do complexo $Cu(II)$ /oxina na gota de mercúrio ser muito maior do que no caso dos complexos $Pb(II)$ /oxina e $Cd(II)$ /oxina (*van den Berg*, 1986). Por essa razão, a quantidade de complexo $Cu(II)$ /oxina adsorvido na gota de mercúrio será sempre superior à quantidade de complexo $Pb(II)$ /oxina ou $Cd(II)$ /oxina e, conseqüentemente, a AdCSV (DP) será sempre mais sensível no caso do cobre (ver Figura III.3.3).

III.3.3. Voltametria de redissolução anódica (ASV)

No caso da voltametria de redissolução anódica, estudou-se o efeito, sobre os resultados obtidos, da técnica analítica usada no passo de redissolução e do tempo de acumulação. Em segundo lugar, realizaram-se rectas de calibração para o $Cu(II)$, o $Cd(II)$ e o $Pb(II)$ numa solução sintética de água salgada.

III.3.3.1. Efeito da técnica electroanalítica usada na etapa de redissolução.

Como já foi visto no caso da AdCSV, a técnica electroanalítica utilizada na etapa de redissolução pode ter efeito sobre a qualidade dos resultados obtidos. De forma a determinar qual das técnicas, diferencial por impulsos ou onda quadrada, permite obter os melhores resultados, foram obtidos, com ambas as técnicas, os voltamogramas de uma solução sintética

de água salgada de $0,991 \times 10^{-6}$ M de Cu^{2+} , $0,996 \times 10^{-6}$ M Cd^{2+} e $1,00 \times 10^{-6}$ M de Pb^{2+} . Escolheu-se trabalhar com níveis de concentrações em metais mais elevados de forma a poder usar um tempo de acumulação curto e ter picos voltamétricos bem definidos. As condições experimentais utilizadas foram as seguintes: $E_{ac} = -0,9$ V; $t_{ac} = 60$ s; $E_i = -0,9$ V; $E_f = 0,2$ V; $t_{eq} = 5$ s. O valor do potencial de acumulação escolhido permite a redução simultânea do cobre, do cádmio e do chumbo presente em solução seguida da sua acumulação na gota de mercúrio e possibilita, assim, a análise simultânea destes três metais. No caso da DP, usou-se uma velocidade de varrimento de $0,01$ V/s e, no caso da SW, usaram-se os seguintes parâmetros: $a_s = 0,025$ V; $f = 8$ Hz e $\Delta E_{SW} = 0,005$ V (velocidade de varrimento de $0,04$ V/s). As velocidades de varrimento usadas em DP, e nomeadamente no caso da ASV, são geralmente baixas (2 a 10 mV/s) de modo a ter uma boa resolução dos picos (Wang, 1994). Efectivamente, em DPASV, o sinal advém da redução do metal amalgamado no eléctrodo de mercúrio que terá de difundir para ser reduzido. Este passo de transferência de massa poderá tornar a cinética global mais lenta e por essa razão é conveniente usar velocidades de varrimento menores. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura III.3.9.

Os picos do Cd(II) e do Pb(II) têm intensidades muito maiores quando é utilizada a onda quadrada, enquanto que, o aumento da intensidade do pico do Cu(II) quando se passa da DP para a SW não é tão significativo. Estas diferenças devem-se ao facto de se utilizar uma velocidade de varrimento quatro vezes maior no caso da onda quadrada. Por outro lado, ao contrário do que acontecia com a AdCSV, os voltamogramas obtidos por SW não apresentam ruído de fundo e os sinais estão muito bem definidos com ambas as técnicas usadas. É ainda de salientar que a utilização da onda quadrada permite poupar muito tempo de análise, visto o varrimento de potenciais ser muito mais rápido.

Pode, então, concluir-se que a onda quadrada, por ser mais sensível e mais rápida, é a técnica electroanalítica mais adequada à determinação de cobre, cádmio e chumbo em águas naturais. Por essas razões, a SWASV continua a ser utilizada por vários autores em estudos de fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais (Lorenzo *et al.*, 2002; Mandal *et al.*, 2003).

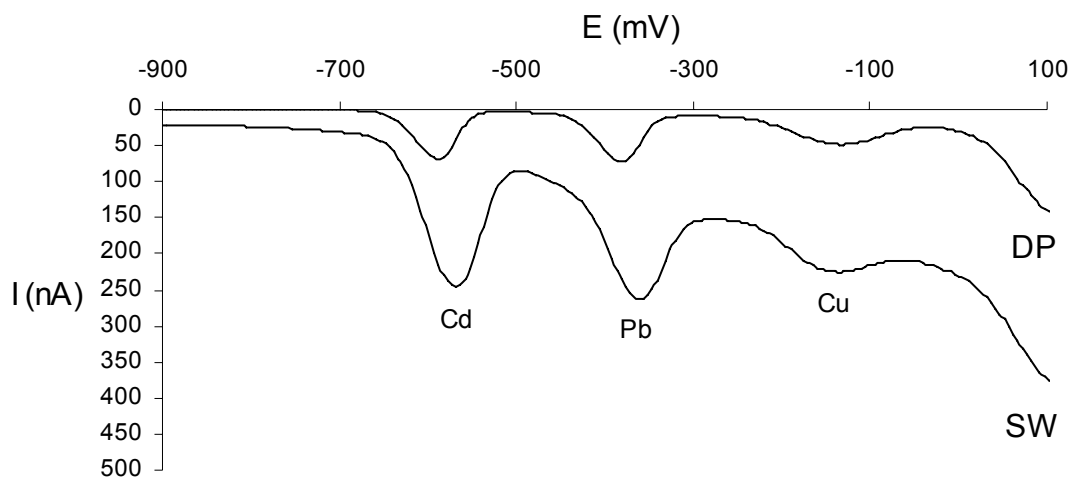


Figura III.3.9: Voltamogramas de uma solução sintética de água salgada com $0,991 \times 10^{-6}$ M em Cu^{2+} , $0,996 \times 10^{-6}$ M em Cd^{2+} e $1,00 \times 10^{-6}$ μM em Pb^{2+} , obtidos por DPASV e por SWASV.

III.3.3.2. Efeito do tempo de acumulação

O efeito do tempo de acumulação foi estudado por SWASV numa solução sintética de água salgada. Foram realizados dois estudos com dois níveis de concentração em metais. Um primeiro, com concentrações na célula de $[\text{Cu}^{2+}] = 0,991 \times 10^{-6}$ M, $[\text{Cd}^{2+}] = 0,996 \times 10^{-6}$ M e $[\text{Pb}^{2+}] = 1,00 \times 10^{-6}$ M e, um segundo, com concentrações na célula de $[\text{Cu}^{2+}] = 5,00 \times 10^{-9}$ M, $[\text{Cd}^{2+}] = 2,00 \times 10^{-9}$ M e $[\text{Pb}^{2+}] = 2,00 \times 10^{-9}$ M. Testaram-se dois níveis de concentrações de metais porque, além da determinação do fracionamento de metais em amostras de águas naturais, a ASV foi também utilizada como método de determinação de metais no método de extracção em fase sólida, em que as concentrações de metais medidas são da ordem de 1×10^{-6} M. O potencial de acumulação utilizado foi -0,9 V, seguido de 5 s de equilibração, e o início do varrimento foi em $E_i = -0,9$ V. Os valores do tempo de acumulação considerados pertencem ao intervalo [0; 300 s]. Os resultados obtidos com os dois níveis de concentração estão apresentados nas Figuras III.3.10 e III.3.11.

No caso dos níveis de concentração mais elevados (1×10^{-6} M) (Figura III.3.10), a intensidade dos picos do cobre, do cádmio e do chumbo aumenta linearmente até 60 segundos de acumulação e tende depois para um patamar. Neste caso em que a concentração dos metais é muito elevada, a gota fica rapidamente saturada em metais o que explica que a intensidade dos picos se aproxime de um patamar para tempos de acumulação superiores 60 segundos.

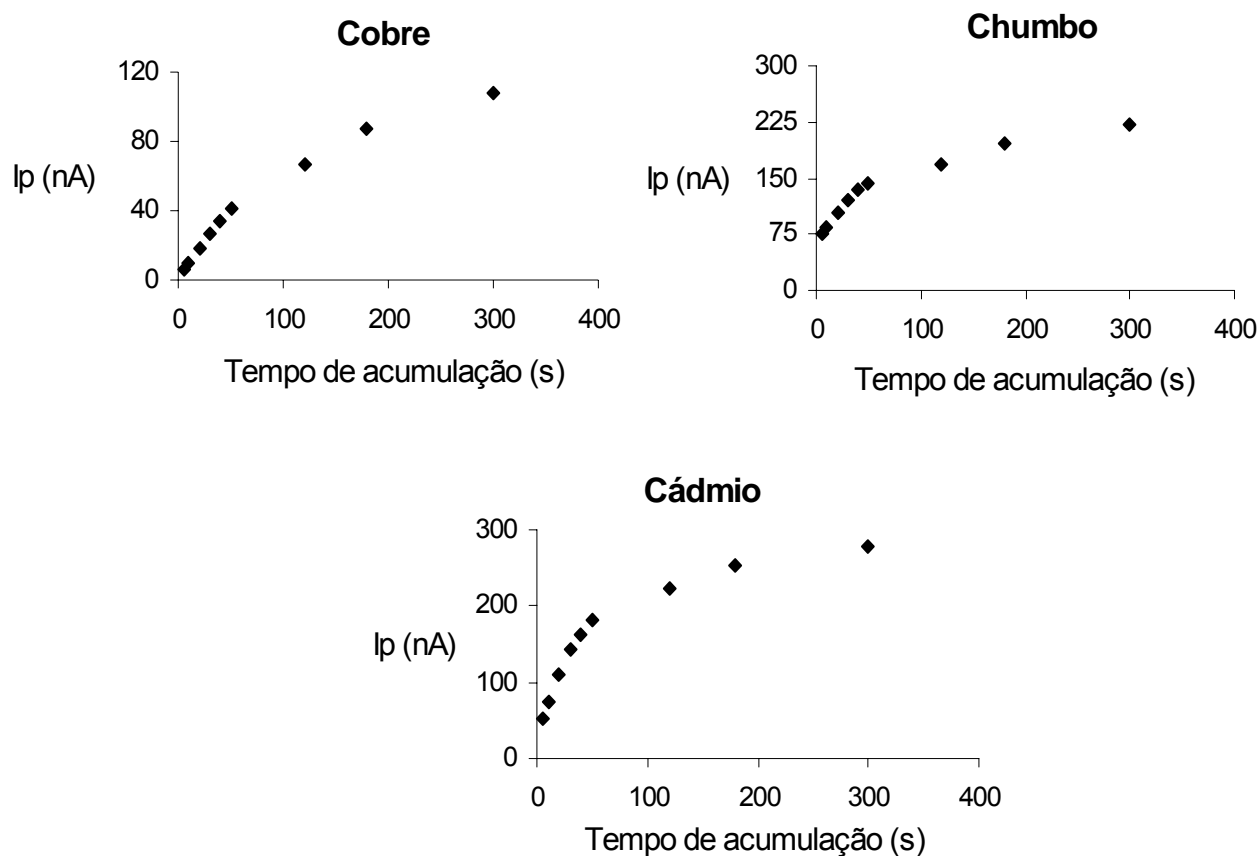


Figura III.3.10: Efeito do tempo de acumulação sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por SWASV numa solução sintética de água salgada com $[Cu^{2+}] = 0,991 \times 10^{-6} M$, $[Cd^{2+}] = 0,996 \times 10^{-6} M$ e $[Pb^{2+}] = 1,00 \times 10^{-6} M$; $E_{ac} = E_i = -0,9 V$, $f = 8 Hz$, $a_s = 0,025 V$, $\Delta E_{sw} = 0,005 V$.

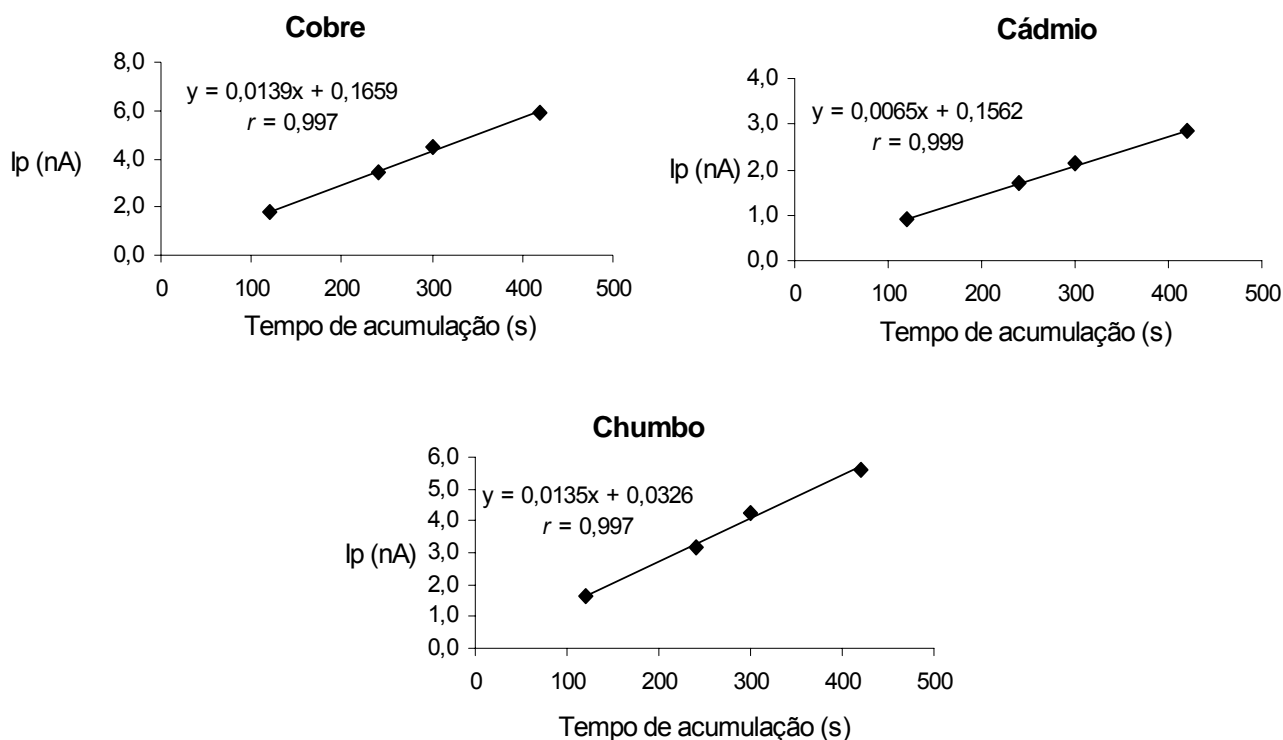


Figura III.3.11: Efeito do tempo de acumulação sobre a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo obtidos por SWASV numa solução de água salgada com $[Cu^{2+}] = 5,00 \times 10^{-9} M$, $[Cd^{2+}] = 2,00 \times 10^{-9} M$ e $[Pb^{2+}] = 2,00 \times 10^{-9} M$; $E_{ac} = E_i = -0,9 V$, $f = 8 Hz$, $a_s = 0,025 V$, $\Delta E_{SW} = 0,005 V$.

No caso dos níveis de concentração da ordem de $1 \times 10^{-9} M$, a intensidade do pico dos três metais vestigiais aqui estudados aumenta linearmente com o tempo de acumulação em toda a gama de tempos estudados (120 - 420 segundos). Efectivamente, como as concentrações em metais são muito baixas, será muito difícil saturar o eléctrodo de mercúrio, o que permite utilizar tempos de acumulação muito elevados.

Como se pode verificar na Figura III.3.12, todos os picos podem ser correctamente definidos com um tempo de acumulação de 120 segundos, embora, tenham, neste caso, intensidades muito baixas. Por outro lado, pode acontecer que a linha de base esteja bastante inclinada na zona de potenciais onde aparece o pico do cobre, o que dificulta a determinação da intensidade do pico (a determinação da intensidade dos picos foi explicada em detalhe na parte experimental – secção II.2.4.3). Este problema ocorre apenas no caso do cobre e deve-se ao facto do pico do cobre aparecer próximo do potencial de oxidação do mercúrio.

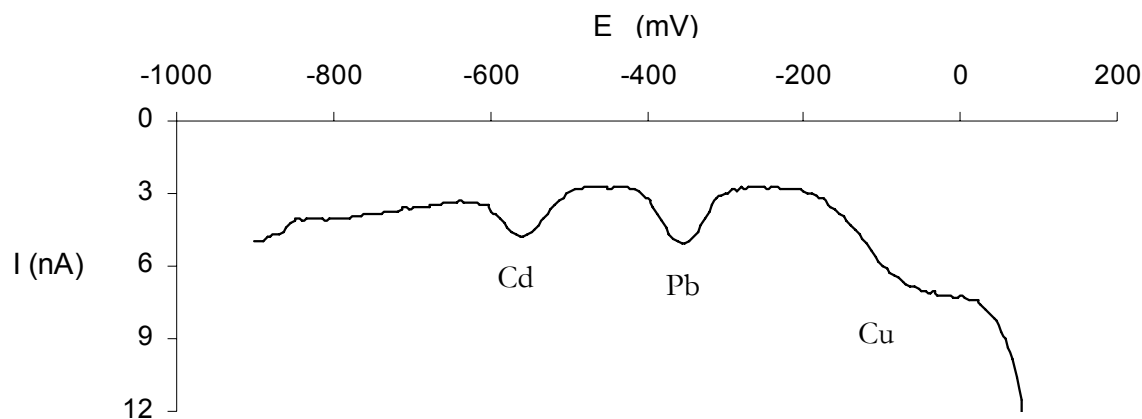


Figura III.3.12: Voltamograma de uma solução sintética de água salgada à $5,00 \times 10^{-9} \text{ M Cu}^{2+}$ e $2,00 \times 10^{-9} \text{ M Cd}^{2+}$ e Pb^{2+} obtido por SWASV com um tempo de acumulação de 2 minutos. $E_{ac} = E_i = -0,9 \text{ V}$, $f = 8 \text{ Hz}$, $a_s = 0,025 \text{ V}$, $\Delta E_{sw} = 0,005 \text{ V}$.

Em conclusão, quando o ASV é utilizado para determinar concentrações baixas ($1 \times 10^{-9} \text{ M}$) de Cu(II) , Cd(II) e Pb(II) , é possível aumentar o tempo de acumulação de modo a aumentar a sensibilidade do método sem correr o risco de saturar o eléctrodo com metais. Contudo, para níveis de concentração mais elevados (μM), é necessário não ultrapassar tempos de acumulação superiores a 60 segundos.

III.3.3.3. Rectas de calibração

Após ter sido estudado o efeito da técnica electroanalítica e do tempo de acumulação utilizada sobre os resultados obtidos na determinação do cobre, cádmio e chumbo por ASV, foram realizadas rectas de calibração para estes 3 metais numa solução sintética de água salgada com concentrações de Cu^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} da ordem de $1 \times 10^{-9} \text{ M}$. No caso do cobre, foram também realizadas rectas com níveis de concentração da ordem de $1 \times 10^{-6} \text{ M}$. As condições experimentais utilizadas foram as seguintes: $E_{ac} = -0,9 \text{ V}$; $E_i = -0,9 \text{ V}$; $E_f = 0,15 \text{ V}$; $t_{eq} = 5 \text{ s}$; $a_s = 0,025 \text{ V}$; $\Delta E_{sw} = 0,005 \text{ V}$ e $f = 8 \text{ Hz}$. Para concentrações na ordem dos nano molar: $t_{ac} = 120 \text{ s}$ e para concentrações da ordem de $1 \times 10^{-6} \text{ M}$: $t_{ac} = 60 \text{ s}$. Os resultados obtidos para níveis de concentração baixos ($1 \times 10^{-9} \text{ M}$) estão expostos na Tabela III.3.6.

Tabela III.3.6: Resultados da calibração relativos a determinação de cobre, chumbo e cádmio em água salgada por ASV com detecção por onda quadrada; níveis de concentração na ordem 1×10^{-9} M; $t_{ac} = 120$ s. (l.d.d: limite de detecção)

Metal	Declive $\pm S_b$ (A.M ⁻¹)	Ordenada na origem $\pm S_a$ (nA)	r (N)	l.d.d (10^{-9} M)
Cobre	$0,408 \pm 0,007$	$(2,3 \pm 2,9) \times 10^{-2}$	0,999 (6)	0,21
Chumbo	$0,599 \pm 0,012$	$(-0,4 \pm 5,2) \times 10^{-2}$	0,998 (6)	0,25
Cádmio	$0,441 \pm 0,011$	$(4,6 \pm 4,6) \times 10^{-2}$	0,998 (6)	0,30

O valor do coeficiente de correlação obtido para os 3 metais é sempre superior ou igual a 0,998, o que permite concluir que a intensidade dos picos de cobre, cádmio e chumbo aumentam linearmente com a concentração na gama de concentração estudada. Será, assim, possível usar este método de calibração para a determinação da concentração destes 3 metais vestigiais em águas naturais.

O valor de declive obtido para o chumbo é 30 % maior do que valor obtido para o cobre. Contudo, nota-se que a diferença entre o declive obtido para o cádmio e para o cobre é pouco significativa. Por outro lado, os valores de limite de detecção obtidos com as condições experimentais utilizadas neste trabalho encontram-se na gama de valores geralmente apresentados para tempos de acumulação idênticos (*Wang, 1994*).

No caso do cobre, realizou-se ainda uma recta de calibração para concentrações na ordem dos micro molar. Os resultados estão apresentados na Tabela III.3. 7.

Tabela III.3.7: Resultados da calibração relativos a determinação de cobre (concentrações da ordem dos micromolar) em água salgada por ASV com detecção por onda quadrada; tempo de acumulação = 60 segundos. (l.d.d: limite de detecção)

Declive $\pm S_b$ (A.M ⁻¹)	Ordenada na origem $\pm S_a$ (nA)	r (N)	l.d.d (10^{-9} M)
$4,64 \pm 0,07$	$-1,12 \pm 0,07$	0,999 (7)	0,56

As principais diferenças entre os resultados obtidos com os dois níveis de concentração aparecem ao nível do limite de detecção e do declive. Com níveis de concentração mais elevados, o valor do limite de detecção obtido é superior ao valor obtido com concentrações mais baixas, mas continua dentro da gama de valores que se encontra na bibliografia (*Wang, 1994*).

Com respeito ao declive, o valor obtido neste caso é 10 vezes maior do que o valor obtido com concentrações na ordem dos nano molar.

Em conclusão, a voltametria de redissolução anódica permite determinar, em soluções salinas, concentrações de cobre, cádmio e chumbo numa vasta gama de concentração ($10^{-9} - 10^{-6}$ M).

III.3.3.4. Comparação da ASV (SW) e da AdCSV (DP)

Os dois métodos voltamétricos usados nestes trabalho foram optimizados e apresentados nas secções anteriores. A SWASV e a AdCSV (DP) vão, agora, ser comparados em termos de sensibilidade e de limite de detecção.

Em paralelo com a recta de calibração por ASV (SW) apresentada na secção anterior, realizou-se, também, uma recta de calibração por AdCSV (DP) com as seguintes condições:

- $E_{ac} = -0,9$ V; $t_{ac} = 120$ s;
- $t_{ac} = 120$ s
- $E_i = -0,2$ V;
- $E_f = -0,9$ V;
- $t_{eq} = 20$ s;
- velocidade de varrimento: 0,02V/s
- concentração de oxina $1,00 \times 10^{-5}$ M em tampão HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M; pH = 7,7).

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela III.3.8.

Quer os limites de detecção, quer os declives obtidos com ambos os métodos, para os 3 metais aqui estudados, têm valores muito próximos. Este resultado aparece um pouco em contradição com os resultados que são apresentados na maioria dos livros ou artigos científicos (*Capodaglio et al. ,1995*). Deve-se, contudo, realçar o facto de não terem sido utilizadas as mesmas técnicas electroanalíticas no passo de redissolução. No caso do ASV, foi

usada a técnica de onda quadrada enquanto que no caso do AdCSV, usou-se a técnica diferencial por impulsos.

Tabela III.3.8: Resultados da calibração relativos a determinação de cobre, chumbo e cádmio em água salgada por ASV com detecção por onda quadrada e por AdCSV com detecção por diferencial por impulsos; níveis de concentração na ordem 1×10^{-9} M; $t_{ac} = 120$ s. (l.d.d: limite de detecção)

Metal	Declive $\pm S_b$ (A.M ⁻¹)		Ordenada na origem $\pm S_a$ (nA)		r (N)		l.d.d (10^{-9} M)	
	AdCSV	ASV	AdCSV ($\times 10^{-3}$)	ASV ($\times 10^{-2}$)	AdCSV	ASV	AdCSV	ASV
Cobre	0,331 $\pm 0,006$	0,408 $\pm 0,007$	31 ± 24	2,3 $\pm 2,9$	0,999 (6)	0,999 (6)	0,22	0,21
Chumbo	0,123 $\pm 0,002$	0,599 $\pm 0,012$	$-0,9 \pm 0,9$	-0,4 $\pm 5,2$	0,999 (6)	0,999 (6)	0,23	0,25
Cádmio	0,272 $\pm 0,003$	0,441 $\pm 0,011$	$2,8 \pm 11$	4,6 $\pm 4,6$	0,999 (6)	0,999 (6)	0,13	0,30

Como já foi referido, a técnica de onda quadrada dá origem a picos com intensidades muito maiores às dos picos obtidos por DP, devido à utilização de velocidades de varrimento maiores no caso da SW. Assim, a utilização da onda quadrada poderá compensar a menor sensibilidade do ASV, explicando o facto de se obterem declives com valores muito próximos tanto por ASV (SW), como por AdCSV (DP). Pode, assim, concluir-se que nas condições experimentais consideradas, os dois métodos aqui apresentados parecem ser mais ou menos equivalentes em termos de sensibilidade.

Na Figura III.3.13, estão representados os voltamogramas de uma solução $3,00 \times 10^{-9}$ M em Cu^{2+} , Cd^{2+} e em Pb^{2+} obtidos por SWASV e por AdCSV (DP). Como se pode verificar, os picos destes 3 metais estão melhor definidos no caso do AdCSV do que no caso do ASV, embora seja em ambos os casos possível distinguir os picos da linha de base.

Tanto a ASV como a AdCSV apresentam a vantagem de ser muito sensíveis e permitir determinar concentrações de metais muito baixas. No entanto, a utilização de uma destas

técnicas pode, em certos casos, ser posta em causa devido aos problemas de interferências e contaminações. Todos estes problemas foram detalhados no Anexo I.

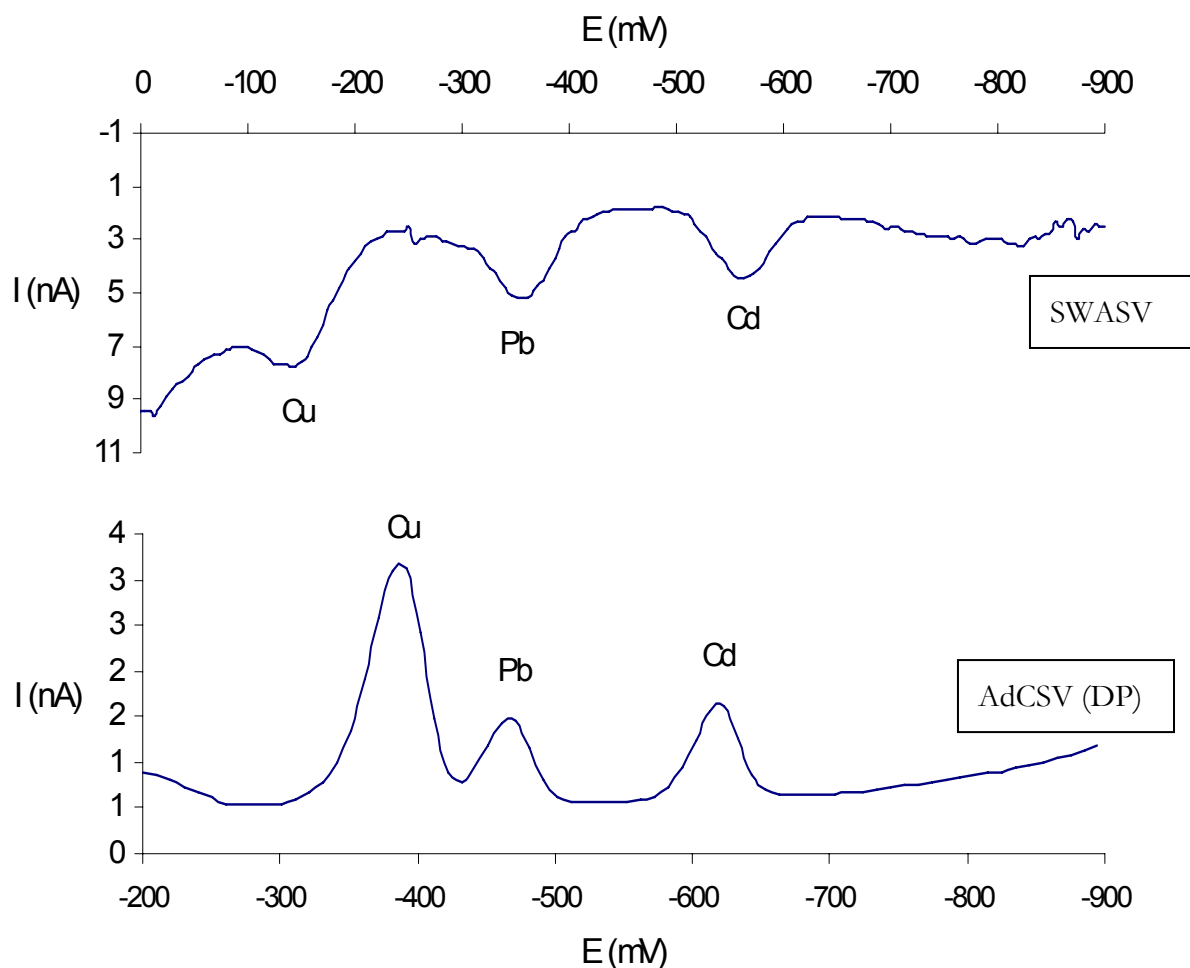


Figura III.3.13: Voltamogramas de uma solução a $3,00 \times 10^{-9}$ M em Cu^{2+} , Cd^{2+} e em Pb^{2+} obtidos por SWASV e por AdCSV (DP). Tempo de acumulação de 120 segundos (outras condições experimentais cf. secção III.3.3.4).

III.3.4. Conclusão

O estudo de otimização quer no caso da AdCSV quer no caso da ASV, permitiu ver o efeito de vários parâmetros experimentais e ainda da salinidade da amostra sobre os voltamogramas e a sensibilidade obtidos com estes métodos. Foi, assim possível determinar as condições experimentais ótimas para o estudo do fracionamento de metais vestigiais em águas estuarinas por AdCSV (HMDE) e por ASV (HMDE) :

- voltametria de redissolução catódica, com acumulação adsortiva (AdCSV) usando como ligando competitivo a 8-hidroxiquinolina ($1,00 \times 10^{-5}$ M) e tampão HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$; pH=7,7); a técnica analítica recomendada é os “impulsos diferenciais”; as condições experimentais ótimas são:

$$E_{ac} = -1,1 \text{ V} \quad E_i = -0,2 \text{ V ou } -0,43 \text{ V (no caso do Pb)} \quad t_{eq} = 20 \text{ s}$$

$$t_{ac} = 60 \text{ ou } 120 \text{ s} \quad E_f = -0,9 \text{ V} \quad \text{velocidade de varrimento} = 20 \text{ mV/s}$$

- voltametria de redissolução anódica usando como técnica analítica a “onda quadrada”; as condições experimentais ótimas são:

$$E_{ac} = -0,9 \text{ V} \quad E_i = -0,9 \text{ V} \quad t_{eq} = 5 \text{ segundos}$$

$$t_{ac} = 60 \text{ ou } 120 \text{ s} \quad E_f = 0,15 \text{ V}$$

$$a_s = 0,025 \text{ V} \quad \Delta E_{sw} = 0,05 \text{ V} \quad f = 8 \text{ Hz}$$

O tempo de acumulação depende muito dos níveis de concentração em metais na amostra estudada pelo que será sempre necessário otimizar este parâmetro quando são analisadas amostras diferentes.

Os dois métodos otimizados neste capítulo foram aplicados a uma mesma amostra de água natural usando as condições experimentais ótimas. Os resultados serão apresentados no capítulo III.4.

III.4. Fraccionamento de metais vestigiais em águas estuarinas por extracção em fase sólida

III.4.1. Introdução

A extracção em fase sólida (SPE) com resinas quelantes ou de troca catiónica foi o segundo método escolhido, neste trabalho, para o estudo do fraccionamento de cobre, cádmio e chumbo, presente em amostras de águas provenientes da “Ria de Aveiro”. Este método tem sido utilizado, ao longo dos últimos anos, em estudos do fraccionamento de metais em águas naturais e também no estudo da capacidade de complexação de ligandos naturais (*Cheng et al., 1994; Donat et al., 1994; Ferri e Sangiorgio, 1996; Figura e McDuffie, 1979; Lin e Nriagu, 1999; Mandal et al., 1999; Pesavento e Biesuz, 1995; Pesavento et al., 2000; Pesavento et al., 2001; Vasoncelos et al., 1996; Vasconcelos e Leal, 1997; Viana et al., 1999*).

Antes da sua aplicação a amostras reais, o procedimento utilizado neste trabalho foi testado com soluções sintéticas e controlaram-se os valores dos brancos de extracção e, ainda, a eficiência da eluição da resina. Numa segunda parte, a SPE foi comparada aos outros métodos de fraccionamento de metais em águas utilizados neste trabalho (métodos voltamétricos).

III.4.2. Fraccionamento de cobre, cádmio e chumbo em águas naturais por extracção em fase sólida

III.4.2.1. Escolha das condições experimentais

O fraccionamento do cobre, cádmio e chumbo em águas naturais foi realizado com duas resinas diferentes: a resina de troca iónica Amberlite CG-50 e a resina quelante Chelex 100. Todos os detalhes experimentais estão apresentados na secção III.2.5.2 e pretende-se, aqui, apenas justificar as condições escolhidas.

O valor do coeficiente de selectividade K_c das resinas definido na secção III.1.4.2.2 depende da natureza do contra ião. Logo, o contra ião presente na resina tem um papel muito importante no método de extracção em fase sólida. Na maioria dos estudos de fraccionamento de metais em águas naturais (*Pesavento e Biesuz, 1995; Pesavento et al., 1999; Pesavento et al., 2001*), assim como em muitos trabalhos em que as resinas são usadas para pré-concentração com vista a determinação da concentração total de metal (*Abollino et al., 2000; Baffi et al., 1992; Cheng et al., 1987; Sawatari et al., 1995; Yabutani et al., 1999*), as resinas são utilizadas na forma H^+ devido ao facto de ser com este contra-ião que se obtêm os melhores resultados em relação à eficiência de extracção das resinas. Vários estudos (*Pesavento e Biesuz, 1995; Pesavento et al., 2001*) mostraram ainda que, quando a resina Chelex 100 é utilizada na forma H^+ , os valores dos brancos de extracção obtidos são muito baixos, o que é conveniente devido às baixas concentrações de metais, geralmente encontradas nas amostras de água natural. Por essas razões, todas as resinas usadas nos trabalhos apresentados neste capítulo foram utilizadas na forma H^+ .

Têm sido usados vários tempos de equilibração entre a resina e a solução: desde tempos curtos de 1-2 horas (*Pesavento et al., 1993*) ou 3-4 horas (*Pesavento e Biesuz, 1995*) até tempos longos de 24 horas (*Pai, 1988; Pesavento et al., 1999; Pesavento et al., 2000*). Como foi referido na secção III.1.4.2.4, é preferível usar maiores tempos de contacto entre a fase estacionária e a solução quando são analisadas amostras de composição desconhecida. Logo, o tempo de contacto escolhido para este trabalho foi de 24 horas. Uma vez que, trabalhando em coluna, seriam necessários caudais extremamente baixos para se obterem tempos de contacto tão longos, procedeu-se em “batch”, método escolhido pelos autores acima referidos que usaram também tempos de contacto de 24 horas

A quantidade de resina utilizada é outro factor que pode influenciar a eficiência de extracção de uma resina. Os valores da razão massa de resina/volume de solução (m_r/V_s) utilizada em estudos por “batch” com a resina Chelex 100 variam entre 0,19 e 3,6 g.L⁻¹ (Baffi *et al.*, 1992; Pai, 1988; Pesavento *et al.*, 1999; Pesavento *et al.*, 2000; Savatari *et al.*, 1995; Yabutani *et al.*, 1999). Cheng *et al.* (1987) optimizaram as condições experimentais para a pré-concentração de vários cationes metálicos por SPE com a resina Chelex 100 em amostras de águas salgadas com vista a determinação da concentração total destes cationes. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela III.4.1.

Tabela III.4.1: Condições óptimas para preconcentração de metais com a resina Chelex 100 em amostras de água salgada (Cheng *et al.*, 1987)

Metal	Razão massa de resina/volume de solução (g.L ⁻¹)	Tempo de agitação (h)	% de recuperação
Cu	0,15	0,5	97,6
Cd	0,30	0,5	91,2
Pb	0,75	3	92,5

No caso da aplicação das resinas em estudos de fraccionamento, pretende-se que a quantidade de resina seja tal que na ausência de ligandos, a resina extraía completamente o catião metálico em solução. Só assim, a extracção parcial do catião metálico em amostras naturais pode ser atribuída à presença de ligandos que competem com a resina na ligação dos cationes.

Segundo os estudos de Cheng *et al.* (1987) (Tabela III.4.1), para a extracção completa de cobre em água salgada, a razão m_r/V_s recomendada é 0,15 g.L⁻¹ enquanto que no caso do chumbo este valor é igual a 0,75 g.L⁻¹. Neste trabalho, foi, então, adoptada uma razão m_r/V_s de 0,30 g.L⁻¹. Este valor encontra-se na gama de valores acima referidos e embora seja inferior a 0,75 g.L⁻¹, valor recomendado por Cheng *et al.* (1987) para uma extracção completa do chumbo, há que ter em consideração o facto de, no presente trabalho, a resina Chelex 100 ter sido usada para estudos de fraccionamento em que se pretende extrair apenas uma fracção do metal presente na amostra. Por essa razão, e de forma a tornar a extracção mais selectiva, não será necessário usar uma razão m_r/V_s tão elevada como o valor proposto por Cheng *et al.* (1987).

Por outro lado, segundo *Cheng et al. (1987)*, quanto maior for o tempo de contacto entre a resina e a amostra, menor será a quantidade de resina necessária para remover a totalidade do analito. Logo, uma vez que o tempo de contacto usado no presente trabalho é de 24 horas, é possível considerar que uma razão de $0,30 \text{ g.L}^{-1}$ garante um excesso de resina suficiente que permite considerar a resina como factor não limitante da extracção.

Em comparação com a Chelex 100, a resina Amberlite CG-50 tem sido menos utilizada para estudos de fraccionamento de metais. Contudo, nos estudos realizados por *Pesavento et al. (2001)*, os valores da razão m_r/V_s utilizada variam entre 0,20 e $3,0 \text{ g.mL}^{-1}$. Tendo em consideração o facto da capacidade de troca da resina Amberlite CG-50 ($10,0 \text{ mmol/g}$) ser superior à da Chelex 100 ($2,00 \text{ mmol/g}$), utilizou-se o mesmo valor de razão m_r/V_s , $0,30 \text{ g.L}^{-1}$ ($0,150 \text{ g}$ de resina em 500 mL de solução) para as duas resinas.

Na maioria dos estudos, o pH das amostras é apenas acertado com pequenas quantidades de base ou de ácido (*Pesavento e Biesuz, 1995; Pesavento et al., 1998, Pai, 1988*) e não existe a preocupação de controlar o pH da mistura resina/solução ao longo da extracção. No presente trabalho, o pH da mistura resina/solução foi sempre ajustado a valores próximos de 6,0-7,0 por adição de carbonato de sódio ou NaOH. Com valores de pH nesta ordem de grandeza, *Yabutani et al. (1999)* mostraram que a totalidade do cobre, do cádmio e do chumbo é removido pela Chelex 100 numa solução isenta de ligandos (Será verificado, nas próximas secções, que para este valor inicial, o pH da mistura resina/solução varia pouco ao longo da extracção no caso de águas naturais).

III.4.2.2. Determinação por voltametria de redissolução anódica dos metais presentes no ácido de eluição das resinas

Na grande maioria dos trabalhos que utilizam a SPE, o método de quantificação dos metais retidos pela resina tem sido a ICP-AES (Espectrofotometria de Emissão Atómica com plasma induzido de Argon) ou a GF-AAS (Espectrometria de Absorção Atómica com Câmara de Grafite) (*Cheng et al., 1994; Groschner e Appriou, 1994; Pesavento et al., 2000; Pryzyńska e Jońca, 2000; Viana et al., 1999*). No presente trabalho, utilizou-se a voltametria de redissolução anódica com o eléctrodo de gota de mercúrio suspensa, condições descritas em III.3.5. Este método de determinação apresenta várias vantagens sobre o ICP-AES ou a GF-AAS,

nomeadamente, um tempo de análise bastante reduzido e um limite de detecção próximo dos limites de detecção das duas técnicas acima referidas.

A calibração do método de quantificação deve ser realizada numa matriz igual ou de composição muito próxima da composição da amostra. Neste caso, a matriz de trabalho é uma solução de ácido nítrico utilizado para eluição das resinas, sendo normal calibrar o método de quantificação com padrões realizados com esta mesma solução. Contudo, durante a eluição da resina, o ácido pode extrair não só metais mas também compostos orgânicos da própria resina, pelo que poderão existir diferenças na composição da solução de ácido, antes e após a extracção (Botta e Mantica, 1999; Pesavento et al., 2000). Consequentemente, a calibração realizada com uma solução de ácido nítrico puro e com uma solução de ácido nítrico que esteve em contacto com a resina poderá levar a resultados diferentes. Por essa razão, a calibração do método de quantificação foi sempre realizado com o ácido de eluição da resina utilizada nos brancos de extracção.

III.4.2.3. Controle da extracção com resinas de troca iónica e quelantes do cobre, cádmio e chumbo presente em águas

Antes de aplicar o método de extracção em fase sólida com resinas à determinação do fraccionamento do cobre, cádmio e chumbo presentes em águas naturais, foram realizados vários testes, de modo a controlar a pureza das resinas e verificar se, na ausência de qualquer ligando, as condições experimentais utilizadas permitem obter uma remoção total dos metais presentes em solução. Outro parâmetro controlado neste estudo prévio foi o pH da mistura resina/solução.

III.4.2.3.1. Brancos de extracção

Sempre que são realizadas extracções de metais com resinas é necessário realizar experiências, chamadas brancos de extracção, para controlar a limpeza de todo o material utilizado, como também da própria resina. Os brancos de extracção foram conduzidos seguindo o procedimento experimental descrito na secção III.2.5.2 e usando água ultrapura como amostra e um tempo de contacto de 24 horas. Na Tabela III.4.2, encontram-se os valores de branco obtidos para o cobre, cádmio e chumbo em experiências diferentes com as duas resinas

consideradas; desta forma será possível ter uma ideia dos valores médios dos brancos e da variabilidade destes valores.

Tabela III.4.2: Valores do branco de extracção do cobre, cádmio e chumbo obtidos em experiências diferentes com a Amberlite CG-50 e a Chelex 100. Factor de preconcentração de 25. (*: inferior ao limite de detecção)

	Cobre	Cádmio	Chumbo
Amberlite CG-50	$1,73 \times 10^{-9}$ M		$0,232 \times 10^{-9}$ M
	$0,989 \times 10^{-9}$ M	(< $3,00 \times 10^{-10}$ M)*	$0,958 \times 10^{-9}$ M
	$2,85 \times 10^{-9}$ M		$0,47 \times 10^{-9}$ M
Chelex 100	$1,38 \times 10^{-9}$ M		
	$0,651 \times 10^{-9}$ M	(< $3,00 \times 10^{-10}$ M)*	(< $2,50 \times 10^{-10}$ M)*
	$1,54 \times 10^{-9}$ M		

Os valores de brancos obtidos no caso do cobre são sempre superiores ao valores obtidos para os outros dois metais estudados. É, ainda, de realçar que os valores obtidos para o cobre, com a Amberlite CG-50, são ligeiramente superiores aos valores obtidos com a resina Chelex 100. Nas amostras analisadas, os níveis de concentração total são maiores no caso do cobre do que no caso do cádmio ou do chumbo. Por esta razão, todos os estudos realizados com soluções sintéticas foram conduzidos com concentrações em cobre superiores às concentrações de cádmio e chumbo o que aumenta os riscos de contaminação, tanto na resina, como no material utilizado.

De uma forma geral, pode considerar-se que os valores dos brancos aqui obtidos são aceitáveis, visto corresponderem sempre a menos de 15 % dos valores determinados nas amostras, excepto no caso do cobre com a Amberlite CG-50 em que certos valores obtidos correspondem a 30 %. Os valores apresentados incluem, também, o branco do método de determinação. Assim, para obter a concentração exacta de metal removida pela resina, em todas as extracções, o valor da concentração de metal determinado no branco foi sempre descontado do valor determinado na amostra.

Os valores de branco determinados são superiores aos valores que se encontram na bibliografia (Gueguen *et al.*, 1999; Pesavento *et al.*, 1999; Pesavento *et al.*, 2001). No entanto, os brancos considerados nesses estudos fazem, geralmente, referência apenas ao branco da

eluição das resinas e sem as submeter previamente a todo o procedimento de extracção com água ultrapura como amostra, como é o caso no presente trabalho.

III.4.2.3.2. Estudo da recuperação dos metais removidos pela resina

Antes de aplicar o método de fraccionamento com resinas a amostras de águas naturais, é necessário verificar se as condições experimentais utilizadas permitem eluir a totalidade dos metais extraídos pelas resinas. Para esse efeito, foram realizadas extracções com soluções de concentrações em cationes metálicos conhecidas, preparadas em água ultrapura e na ausência de qualquer ligando. Desta forma, todo o metal presente em solução está sob a forma de catione metálico livre (catione metálico hidratado) e deverá, portanto, ser extraído na sua totalidade pelas resinas. A percentagem de recuperação, R , de cada metal foi, então, calculada utilizando a seguinte expressão:

$$R = \frac{C_{\text{eluato}} \times V_{\text{eluato}}}{C_{\text{solução}} \times V_{\text{solução}}} \times 100 \quad (\text{III.4.1})$$

onde C_{eluato} corresponde à concentração de metal do eluato, V_{eluato} ao volume de eluato, $C_{\text{solução}}$ à concentração da solução padrão da qual foram extraídos os metais com a resina e $V_{\text{solução}}$ ao volume desta solução.

Partindo do princípio que todo o metal existente em solução fica retido na resina, e que o ácido de eluição permite recuperar a totalidade do metal extraído pela resina, são de esperar valores de R na ordem dos 100%.

Determinou-se, então, a percentagem de recuperação de cobre, cádmio e chumbo em cada uma das resinas. Foram utilizadas soluções preparadas em água ultrapura com concentrações de metais na ordem de 10^{-8} M no caso do cobre e 10^{-9} M no caso do cádmio e do chumbo. Estes valores foram escolhidos tendo em consideração os níveis de concentração destes metais nas amostras de águas naturais analisadas. O procedimento experimental utilizado neste estudo foi o descrito na secção III.2.5.2 da parte experimental. Os valores de R obtidos para cada resina e cada metal estão apresentados na Tabela III.4.3.

Tabela III.4.3: Percentagens de recuperação de cobre, de cádmio e de chumbo em água ultrapura obtidas com a Amberlite CG-50 e a Chelex 100 – valor médio e desvio padrão de N réplicas.

	Cobre	Cádmio	Chumbo
Amberlite CG-50	(99,9 ± 3,0) % (N=6)	(101 ± 3,4) % (N=6)	(99,8 ± 5,0) % (N=5)
Chelex 100	(99,9 ± 2,9) % (N=6)	(99,7 ± 5,5) % (N=6)	(100,5 ± 2,4) % (N=6)

As percentagens de recuperação determinadas para as duas resinas aqui consideradas no caso do cobre, cádmio e chumbo têm todos valores de 100 %. Pode, assim, concluir-se que na ausência de ligandos, as resinas são capazes de remover a totalidade dos metais presentes em solução e que todo o metal extraído pelas resinas é eficientemente removido pelo ácido de eluição.

É de salientar que este controlo do poder de remoção das resinas, apesar de ser essencial, é raramente realizado antes da utilização das resinas, nomeadamente quando estas são usadas como método de pré-concentração para a determinação da concentração total de cationes metálicos em águas naturais (*Gueguen et al., 1999; Jimenez et al., 2002; Pyrzyńska e Jońca, 2000*)

III.4.2.3.3. Variação do pH ao longo da extracção

Como já foi referido, o fraccionamento dos metais nas águas naturais depende do pH. Assim, é necessário ter em consideração as variações de pH que ocorrem durante a extracção dos metais pelas resinas.

Neste trabalho, as resinas são utilizadas na forma H⁺ havendo, portanto, libertação de protões para a solução quando ocorre a troca de cationes metálicos e, consequentemente, diminuição do pH da mistura resina/solução. De modo a determinar a ordem de grandeza da variação de pH que ocorre durante a extracção de metais pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50, determinou-se o pH da solução antes e após o contacto com a resina.

Este estudo foi realizado com amostras de águas naturais. As variações de pH observadas com a Chelex 100 e com a Amberlite CG-50, em dois estudos com valores de pH iniciais diferentes, estão representadas na Figura III.4.1. Como é possível observar, a variação máxima de pH com a Chelex 100 é de 0,4 unidades pH enquanto que no caso da Amberlite CG-50, a

variação máxima é de 0,8 unidades de pH. Nesta gama de valores de pH, as variações são difíceis de controlar se a solução não estiver tamponizada como é o caso dos padrões utilizados no presente trabalho ou das amostras de água estudadas. *Pesavento et al. (1999)*, num estudo de especiação de metais em águas naturais onde utilizaram a Chelex 100 sem tamponizar as amostras, obtiveram grandes variações do pH da mistura resina/solução. Por exemplo, para um pH inicial de 7,8, obtiveram valores finais de pH entre 4,5 e 7,2 dependendo do volume de amostra utilizado. No caso da Amberlite CG-50, foram observadas variações de pH muito menores com uma diminuição de 7,0 para 6,7 (*Pesavento et al., 2001*). Em ambos os casos, estas variações de pH foram justificadas pelo facto da resina ser utilizada na forma H^+ , o que confere as resinas um carácter ácido tendo sido sublinhado o facto destas variações não afectarem os resultados do fraccionamento (*Pesavento et al., 1999; Pesavento et al., 2001*). Pode, então, concluir-se que as variações de pH observadas no nosso estudo não irão afectar significativamente os resultados de fraccionamento.

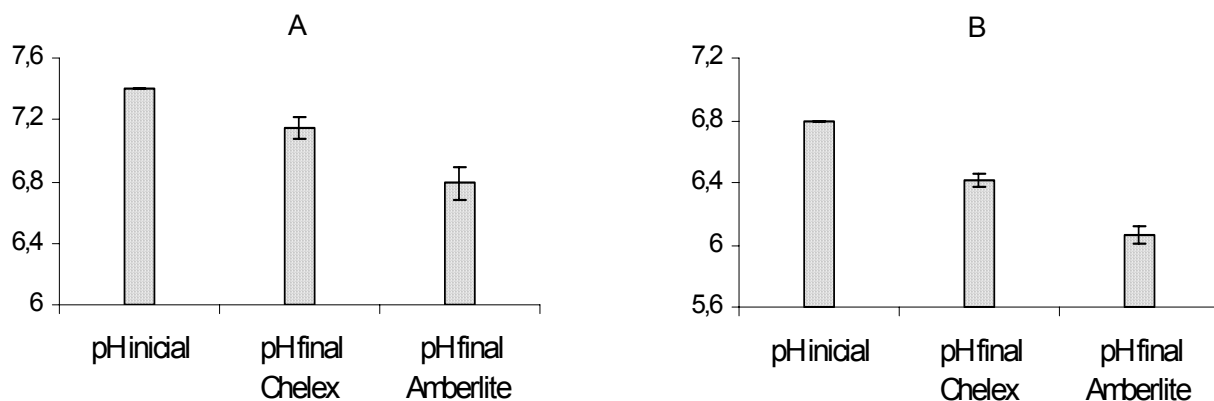


Figura III.4.1: Variação do pH de uma mistura resina/amostra; A: $pH_{inicial} = 7,4$; B: $pH_{inicial} = 6,8$ (3 réplicas). Tempo de contacto de 24 horas.

III.4.2.4. Aplicação da extracção em fase sólida ao fraccionamento de cobre, cádmio e chumbo em águas naturais

O método de extracção em fase sólida foi usado para determinar a fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo em águas naturais. O principal objectivo desta aplicação a águas naturais é de testar este método de fraccionamento com amostras reais de forma a ter uma ideia da sua eficiência e determinar a variabilidade dos resultados. As resinas Amberlite CG-50 e Chelex 100 foram utilizadas com uma mesma amostra. A amostra de água proveniente da Ria de Aveiro foi tratada segundo o procedimento descrito na secção III.2.2 e determinaram-se os seguintes parâmetros:

- pH = 7,8
- Condutividade = 15000 μ S
- Salinidade: 13
- Absorvência (λ = 250 nm) = 0,511

Realizaram-se três réplicas de extracção com cada resina e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela III.4.4. Os valores apresentados são a média e o desvio padrão de três réplicas; entre parênteses está indicado o valor do desvio padrão relativo.

Como é possível verificar, este método de fraccionamento permite determinar concentrações com valores muito baixos, chegando a gama de 10^{-10} M, uma vez que também é realizada uma pré-concentração dos cationes metálicos. O limite de determinação depende do factor de concentração utilizado; neste trabalho o factor de concentração é de c.a. 25, mas conforme os volumes de solução e de ácido de eluição utilizados, o factor de concentração pode chegar a valores muito superiores (até valores superiores a 100) permitindo medir concentrações inferiores a 10^{-11} M. No entanto, como se pode verificar, um factor de concentração de 25 é suficiente para a determinação da fracção lábil dos três metais estudados em amostras de águas naturais pouco contaminadas.

Os valores de desvio padrão relativo obtidos com três réplicas para as duas resinas e os três metais estudados variam entre 6 e 28 % do valor da concentração extraída. Note-se que é no caso do cádmio que se observa a maior variabilidade dos resultados; isto poderá ser devido ao facto do cádmio estar presente em níveis de concentração mais baixos.

Tabela III.4.4: Concentração total e concentração da fracção lábil (média e desvio padrão de três réplicas) de cobre, cádmio e chumbo determinada com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50. Factor de pré-concentração = 25. Entre parênteses está indicado o valor do desvio padrão relativo da concentração da fracção lábil.

		Cobre	Cádmio	Chumbo
Concentração total (1×10^{-9} M)		47,7	1,51	2,43
Concentração da fracção lábil (1×10^{-9} M)	Amberlite CG-50	$9,63 \pm 1,45$ (15 %)	$0,134 \pm 0,037$ (28 %)	$1,20 \pm 0,11$ (9 %)
	Chelex 100	$15,4 \pm 1,7$ (11 %)	$0,260 \pm 0,043$ (16 %)	$1,04 \pm 0,06$ (6 %)

Figura e McDuffie (1980) num estudo de especiação de metais com a Chelex 100 obtiveram valores de desvio padrão relativo entre 2,5 e 10 % no caso do chumbo. *Pesavento et al. (2001)* utilizaram, também, as resinas Amberlite CG-50 e Chelex 100 para determinação da concentração de cobre e cádmio em águas naturais. No caso do cádmio, os valores de desvio padrão relativo obtidos com a Amberlite CG-50 variaram entre 19 e 47 % para réplicas da mesma amostra e os valores obtidos com a Chelex 100 variaram entre 20 e 39%. No caso do cobre, os valores de desvio padrão relativo obtidos com a resina Amberlite CG-50 variaram entre 25 e 61% e, no caso da Chelex 100 entre 31 e 52 %. Considerando que a maior variação observada no nosso trabalho é de 28%, pode concluir-se que as concentrações da fracção lábil de metal determinadas neste estudo apresentam valores de desvios padrão relativos que se situam dentro da gama de valores obtidos por outros autores acima referidos.

Pode, desde já, concluir-se que o método de extracção em fase sólida utilizado com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 permite determinar, de modo eficiente, concentrações vestigiais de metal lábil em águas naturais.

III.4.3. Comparação da extracção em fase sólida com métodos voltamétricos de fraccionamento.

III.4.3.1. Métodos de fraccionamento utilizados

A extracção em fase sólida foi comparada a outros métodos de fraccionamento de metais em águas naturais, alguns apresentados no capítulo anterior. Para esse efeito, aplicaram-se vários métodos a uma mesma amostra de água proveniente da Ria de Aveiro. A amostra de água aqui usada foi a mesma amostra usada na secção III.4.2.4.1.

As técnicas voltamétricas aplicadas foram:

- a voltametria de redissolução catódica, com acumulação adsortiva (AdCSV) usando como ligando competitivo a 8-hidroxiquinolina ($1,00 \times 10^{-5}$ M) e o tampão HEPES ($1,00 \times 10^{-4}$ M; pH=7,7); as condições experimentais utilizadas foram já apresentadas na secção III.3.4:

$$E_{ac} = -1,1 \text{ V} \quad E_i = -0,2 \text{ V} \quad t_{eq} = 5 \text{ segundos} \quad t_{ac} = 120 \text{ s} \quad E_f = -0,9 \text{ V}$$

- a voltametria de redissolução anódica de onda quadrada (SWASV) com dois tipos de eléctrodo: a gota de mercúrio (HMDE) e o filme de mercúrio (TMFE); os filmes de mercúrio foram realizados seguindo a técnica desenvolvida por *Monterroso et al. (2004)*. As condições experimentais utilizadas foram as seguintes:

$$E_{ac} = -0,9 \text{ V} \quad E_i = -0,9 \text{ V} \quad t_{eq} = 5 \text{ segundos} \quad t_{ac} = 5 \text{ ou } 10 \text{ min} \quad E_f = 0,15 \text{ V}$$

No caso da extracção em fase sólida (SPE), utilizaram-se duas resinas de troca catiónica: a Amberlite CG-50 e a Chelex 100 em “batch” com uma razão massa de resina/volume de solução igual a $0,3 \text{ g.L}^{-1}$.

O procedimento experimental utilizado em todo este estudo foi o descrito nas respectivas secções III.2.4.2 e III.2.5.2.

As concentrações totais de cobre, cádmio e chumbo na amostra de água foram determinadas por AdCSV, após destruição da matéria orgânica por acidificação a pH 1 e irradiação UV (Anexo IV).

III.4.3.2. Fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo determinada pelos vários métodos de fraccionamento

As concentrações totais e as concentrações da fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo determinadas com os vários métodos de fraccionamento aqui utilizados apresentam-se na Tabela III.4.5.

Considerando os resultados obtidos por SPE, pode verificar-se que a fracção lábil determinada com a resina Chelex 100 é superior à fracção lábil determinada com a Amberlite CG-50 no caso do cobre e do cádmio, enquanto que no caso do chumbo, obteve-se concentrações sensivelmente idênticas com as duas resinas.

Tabela III.4.5: Concentrações totais e percentagens da fracção lábil de cobre, chumbo e cádmio determinadas com os vários métodos de fraccionamento. Os valores apresentados são a média de três réplicas e o desvio padrão respectivo.

	Cobre	Chumbo	Cádmio
Concentração total (1×10^{-9} M)	47,7	2,43	1,51
Fracção lábil (%)			
ASV filme Hg	$1,22 \pm 0,21$	$2,09 \pm 0,41$	< l.d.d.
SWASV gota – 5 min	$17,4 \pm 0,3$	$11,9 \pm 1,3$	< l.d.d.
SWASV gota – 10 min	$22,0 \pm 0,4$	$11,5 \pm 1,9$	< l.d.d.
AdCSV (2min) DP	$41,8 \pm 1,3$	< l.d.d.	< l.d.d.
SPE - Chelex 100	$32,3 \pm 3,5$	$42,7 \pm 2,6$	$15,2 \pm 2,8$
SPE – Amberlite CG-50	$22,2 \pm 3,1$	$46,9 \pm 4,5$	$7,61 \pm 2,4$

As diferenças entre os resultados obtidos com as duas resinas deve-se as propriedades de cada resina. Efectivamente, a Amberlite CG-50 é uma resina fraca de troca catiónica enquanto que a Chelex 100 é uma resina quelante forte que compete com mais eficiência com os ligandos naturais para a extracção de metais. Por outro lado, a fracção lábil de metal determinada por SPE depende, também, do metal considerado. Assim, qualquer que seja a resina considerada, a fracção lábil de chumbo é sempre superior a fracção lábil de cobre que, por sua vez, é superior

a fracção lábil de cádmio. *Figura e McDuffie (1980)* usaram também a SPE com a Chelex 100 em “batch” para determinar o fraccionamento do cobre, do cádmio e do chumbo em águas naturais e obtiveram fracções lábeis de cobre e chumbo com valores próximos e sempre superiores ao valor da fracção lábil de cádmio.

Os níveis de concentração da fracção lábil de cádmio, na amostra estudada, estão abaixo do limite de detecção dos dois métodos voltamétricos utilizados neste estudo ($<0,1\text{nM}$ em AdCSV e $<0,3\times 10^{-9}\text{ M}$ em ASV). Da mesma forma, no caso do chumbo, não foi possível determinar a concentração da fracção lábil por AdCSV ($<0,2\times 10^{-9}\text{ M}$).

Os resultados obtidos com o cobre permitem comparar a fracção lábil determinada com as várias técnicas voltamétricas utilizadas. Assim, a fracção lábil determinada por AdCSV é sempre superior à fracção lábil determinada por ASV. No caso da ASV, a fracção lábil é constituída pelo metal livre e pelo metal envolvido em complexos, geralmente complexos inorgânicos, que se dissociam na camada de difusão durante o tempo de análise (*Bruland et al., 2000*). No caso do AdCSV, a fracção lábil é constituída pelo metal livre e pelo metal envolvido em complexos menos estáveis que o complexo metal-oxina e cuja velocidade de dissociação é suficientemente elevada para que haja dissociação do complexo natural seguida da complexação do metal pela oxina durante o tempo de análise. Assim a oxina é capaz de competir com vários ligandos naturais (ver valores de constantes de estabilidade dos complexos formados no Anexo II), logo a fracção lábil de metal determinada por AdCSV será sempre superior a fracção lábil determinada por ASV.

Segundo o tipo de eléctrodo utilizado, a fracção lábil de cobre determinada por ASV varia de 0,7 %, no caso do filme de mercúrio, para ca. 20 % no caso da gota de mercúrio. Um dos factores com mais influência sobre a fracção lábil de metal determinado por ASV é a espessura da camada de difusão que rodeia o eléctrodo (*Bruland et al., 2000*). Efectivamente, quanto maior for a espessura da camada de difusão, maior será o tempo disponível para os complexos metálicos se dissociarem e consequentemente a fracção lábil determinada será maior (*Bruland et al., 2000*). A espessura da camada de difusão pode ser estimada a partir da velocidade de rotação do eléctrodo no caso do TMFE (*Capodaglio et al., 1995*). Assim, uma vez que a agitação da solução no caso da ASV (TMFE) é mais eficiente do que no caso da ASV (HMDE), a camada de difusão no caso do eléctrodo de gota de mercúrio é maior do que no caso dos filmes de mercúrio e por essa razão a fracção lábil de metal determinada por ASV (HMDE) é maior do que no caso da ASV (TMFE). *Donat et al. (1994)* compararam, também, os resultados

obtidos por ASV (HMDE) e por ASV (TMFE) na determinação da fracção lábil de cobre numa amostra de água natural e mostraram que a fracção determinada por ASV (HMDE) é superior à fracção determinada por ASV (TMFE) sendo a ASV (TMFE) mais eficiente para distinguir a fracção de cobre envolvido em complexos inorgânicos da fracção de cobre envolvido em complexos orgânicos. Assim, a fracção lábil de metal determinada por ASV (TMFE) poderá ser considerada como uma melhor aproximação da fracção de metal livre.

O tempo de análise é a principal diferença entre as técnicas voltamétricas aqui utilizadas e a SPE. No caso da voltametria, os tempos de análise são muito curtos (poucos segundos) enquanto que no caso da SPE em “batch”, os tempos de extracção utilizados são de várias horas. Quanto maior for o tempo de análise maior será o tempo disponível para os complexos metálicos presentes na amostra de água se dissociarem e, consequentemente, seria de esperar que a fracção lábil de metal fosse maior quando o método usado tem um tempo de análise maior. No entanto, no caso do cobre, as fracções lábeis determinadas por ASV (HMDE) e por SPE com a resina Amberlite CG-50 apresentam valores muito próximos. Da mesma forma, a AdCSV e a resina Chelex 100 conduzem a determinação de fracções lábeis de cobre com concentrações da mesma ordem de grandeza. Logo, é possível concluir-se que, além do tempo de análise, parâmetros tais como a afinidade do ligando competitivo ou dos grupos funcionais da resina para os metais estudados têm também influência sobre a fracção lábil de metal determinada com cada método.

A comparação das fracções lábeis de cobre, de cádmio e de chumbo, determinadas por SPE e por dois métodos voltamétricos, realçou o carácter operacional da fracção lábil determinada com cada técnica. Mostrou-se aqui que além do tempo de análise, vários parâmetros como a natureza dos ligandos competitivos ou grupos funcionais no caso das resinas, ou, ainda o eléctrodo utilizado, podem ter influência sobre a fracção lábil determinada. Por outro lado, este estudo mostrou que ao contrario dos métodos voltamétricos, a SPE permite sempre determinar o fraccionamento de metais em águas naturais mesmo como, no caso presente, quando os níveis de concentração em metais são muito baixos. A extracção em fase sólida poderá, assim, ser considerada como uma técnica com grande potencialidades para a determinação do fraccionamento de metais vestigiais em águas naturais.

III.4.4. Conclusão

Todo este trabalho mostrou a capacidade do método de extracção em fase sólida com resinas para a determinação do fraccionamento de metais em águas. Por outro lado, é importante ter em consideração o forte carácter operacional da fracção lábil, determinada tanto por SPE como com métodos voltamétricos, quando se pretende fazer correlações com a biodisponibilidade ou mesmo a toxicidade dos metais nas águas naturais. A comparação da fracção lábil determinada com vários métodos mostrou, ainda, que dois métodos diferentes, como por exemplo a SPE com a Chelex 100 e a AdCSV permitem determinar fracções lábeis da mesma ordem de grandeza. Logo, embora seja um método menos utilizado do que os métodos voltamétricos, o desenvolvimento de novas resinas assim como novos esquemas de fraccionamento, poderão tornar a extracção em fase sólida num método com grandes capacidades para o fraccionamento de metais em águas.

III.5. O carácter operacional da fracção lábil determinada por SPE

III.5.1. Introdução

A fracção lábil de metal determinada por extracção em fase sólida com uma resina de troca catiónica inclui os catiões metálicos na forma livre (aquo-complexos) assim como os catiões metálicos provenientes da dissociação, durante o tempo de extracção, de complexos metálicos (*Chakrabarti et al., 1993*). Como já foi referido na secção III.1, parâmetros como o tempo de extracção, a proporção massa de resina/volume de solução ou o pH e, mais particularmente, grandes variações de pH durante a extracção, têm influência sobre a quantidade de metal extraído pelas resinas e consequentemente sobre a fracção lábil de metal determinada por SPE. Neste capítulo, estudou-se, o melhor processo de controlar as variações de pH durante a extracção e, ainda, o efeito da razão massa de resina/volume de solução, do tempo de extracção, e da salinidade da solução sobre a fracção de metal extraído pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50. Numa segunda parte, estudou-se o carácter operacional da fracção lábil determinada por SPE e analisou-se a relação entre a fracção de metal livre e a fracção lábil de metal determinada por SPE em soluções contendo vários metais e vários ligandos orgânicos.

Todo este trabalho foi realizado em soluções preparadas em água ultrapura com níveis de concentração em metais (1×10^{-6} M) superiores aos níveis geralmente encontrados nas águas naturais de modo a permitir a quantificação dos metais extraídos pelas resinas por F-AAS. É de salientar que muitos trabalhos de SPE realizados com soluções sintéticas, como no caso presente, foram realizados com níveis de concentração da mesma ordem de grandeza (*Liu e Ingle, 1989; Pesavento et al., 2000; Vasconcelos et al., 1996; Viana et al., 1999*).

Como se verificou no capítulo III.4, em estudos com amostras naturais de águas salgadas, as razões m_r/V_s usadas têm valores que rondam $0,3 \text{ g.L}^{-1}$. Estes valores baixos devem-se ao facto da extracção em fase sólida ser muitas vezes usada como método de pré-concentração para determinação de concentrações totais de metais em águas naturais. Logo, é necessário usar grandes volumes de solução e pequenas quantidades de resina facilmente eluidas com pequenas quantidades de ácido que permitem obter factores de pré-concentração elevados. No caso presente, os níveis de concentração utilizados são muito superiores aos níveis naturais não sendo necessário ter factores de pré-concentração elevados e, portanto, os volumes de solução extraída são menores. Por outro lado, a utilização de soluções com níveis de concentração de metais muito superiores impõe que a quantidade de resina usada seja, também, maior. Por essas razões, o trabalho apresentado neste capítulo foi realizado com valores de m_r/V_s iguais ou superiores a 1 g.L^{-1} . É de salientar que valores entre $0,5$ e 10 g.L^{-1} foram utilizados por *Vasconcelos et al., 1996* num estudo em águas doces com níveis de concentração da mesma ordem de grandeza dos aqui usados.

As extracções de metais pelas resinas foram sempre realizadas em “batch”, tal como nos estudos de fraccionamento em amostras de águas naturais referidos na secção III.4.

É de salientar que os resultados obtidos por SPE no fraccionamento do cobre, do cádmio e do chumbo em águas naturais, e apresentados no capítulo III.4, foram obtidos com condições experimentais escolhidas com base em vários trabalhos realizados por outros autores já referenciados. Uma vez que os níveis de concentração de metais em águas naturais são muito inferiores aos níveis de concentração usados neste capítulo nem sempre foi possível estabelecer correlações entre os resultados obtidos nestes dois capítulos.

III.5.2. Influência das condições experimentais sobre a eficiência de extracção das resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50

III.5.2.1. Factores que afectam a variação do pH ao longo da extracção por SPE

Durante a extracção de catiões metálicos por uma resina de troca catiónica, o efeito perturbador da resina pode provocar uma variação do pH da solução (cf. equações III.1.22 e III.1.23). Este efeito será mais acentuado se a resina se encontrar na forma H^+ , uma vez que os catiões trocados são os catiões metálicos da solução e os H^+ da resina. Por outro lado, quanto maior a quantidade de catiões em solução ou quanto maior a quantidade de resina, maior será a troca de catiões, e consequentemente, maior será a variação de pH. No capítulo III.4, em que foram usadas pequenas quantidades de resina e onde as concentrações de catiões metálicos eram bastante baixas (pequenas quantidades de catiões trocados), as variações de pH observadas durante a extracção eram inferiores a uma unidade de pH. Contudo, com maiores concentrações de metal, maiores proporções de resina e soluções com pouco efeito tampão devido a ausência de ligandos naturais, as variações de pH podem ser superiores.

Geralmente, nos trabalhos em que é utilizada a SPE com resinas, apenas o pH da solução inicial é ajustado (Baffi *et al.*, 1992; Chakrabarti *et al.*, 1993; Ferri e Sangiorgio, 1996; Groschner e Apprion, 1994; Pesavento *et al.*, 2001; Vasconcelos e Leal, 1997). Adoptando este procedimento (ajuste do pH da solução inicial), foram realizadas duas experiências (três replicas de cada) de modo a avaliar a importância da variação de pH ao longo da extracção quando se consideram concentrações em metais mais elevadas e são usadas maiores proporções de resina. As resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 na forma H^+ foram equilibradas com duas soluções (A e B) de composição diferentes durante um tempo superior ou igual a 4 horas (ver Tabela III.5.1).

Nos dois casos aqui estudados, o pH diminui mais de 2,5 unidades com qualquer uma das resinas tendo esta variação um valor muito superior aos valores observados no capítulo III.4 com águas naturais. Confirma-se, assim, que as quantidades de metal e de resina consideradas têm efeito sob a variação do pH da solução extraída.

Tabela III.5.1: Composição das soluções A e B e condições experimentais utilizadas.

	Solução A	Solução B
	Água ultrapura	Água salgada de salinidade 13
Composição da solução	[Cu] _{total} = $8,0 \times 10^{-6}$ M; [Cd] _{total} = $1,8 \times 10^{-6}$ M; [Pb] _{total} = $2,0 \times 10^{-6}$ M	[EDTA] = $4,1 \times 10^{-6}$ M e [Cu] _{tot} = $8,2 \times 10^{-6}$ M
Razão m _r /V _s	1 g.L ⁻¹ (0,15 g de resina em 150 mL de solução)	10 g.L ⁻¹ (0,50 g de resina em 50 mL de solução)
Tempo de extracção	24 horas	4 horas

O ião trocável presente na resina poderá também ter influência sobre a variação de pH da solução durante a extracção. Efectivamente, quando a resina se encontra na forma H⁺, a libertação de protões pela resina provoca uma diminuição do pH da mistura, como se observou na experiência anterior e no capítulo III.4. Logo, se o ião trocado pela resina for outro que não o H⁺, a variação de pH durante a extracção deverá ser muito menor. Por outro lado, verificou-se que a mistura da resina com a solução provoca uma diminuição imediata do pH da mistura. Assim, o ajuste do pH da mistura resina/solução poderá ser outra forma de minimizar as variações de pH durante a extracção. Procedeu-se, então, a extracção de uma mesma solução com as resinas na forma Na⁺ sem ajuste do pH da mistura resina/solução e na forma H⁺ com ajuste do pH da mistura resina/solução de modo a comparar as variações de pH observadas em cada caso. As condições experimentais assim como a composição da solução utilizada neste trabalho estão apresentadas na Tabela III.5.2.

Tabela III.5.2: Composição da solução e condições experimentais utilizadas.

Composição da solução	Água salgada de salinidade 26 [Cu] _{total} = $8,0 \times 10^{-6}$ M; [Cd] _{total} = $1,8 \times 10^{-6}$ M; [Pb] _{total} = $2,0 \times 10^{-6}$ M
Razão m _r /V _s	10 g.L ⁻¹ (0,5 g de resina em 50 mL de solução)
Tempo de extracção	24 horas

O pH da mistura resina/solução foi ajustado a um valor próximo de 7,0 por adições de Na_2CO_3 apenas no caso das resinas na forma H^+ . O pH da solução de extracção foi sempre medido no início (após o ajuste com Na_2CO_3) e no fim de extracção. Os valores obtidos estão apresentados na Tabela III.5.3.

Como aparece na Tabela III.5.3, as variações de pH observadas neste caso são sempre inferiores a 1,4 unidade de pH. A utilização da resina na forma Na^+ , além de saturar a resina com um dos cationes maioritários da água salgada, permite, assim, reduzir bastante a variação de pH da solução durante a extracção sem qualquer ajuste do pH inicial (variação máxima de 0,7 unidades de pH).

Contudo, os resultados obtidos com a resina na forma Na^+ apresentam uma variabilidade muito maior do que os resultados obtidos quando as resinas estão na forma H^+ . Esta variabilidade deve-se ao facto da quantidade de sódio na solução de eluição da resina ser muito elevada o que provoca interferências e maior variabilidade dos resultados na determinação por F-AAS das concentrações de cobre, cádmio e chumbo no eluato. Nota-se que estas duas resinas na forma Na^+ conferem à solução um pH alcalino com valores próximo de 10,0 no caso da Chelex 100 e de 11 no caso da Amberlite CG-50 o que explica o facto do pH da solução após extracção pela Amberlite CG-50 ter um valor superior ao pH inicial da solução. A utilização das resinas na forma H^+ com ajuste de pH da mistura resina/solução permite obter resultados com menor variabilidade e reduzir consideravelmente as variações de pH. Por essas razões, esse procedimento foi adoptado em todo o trabalho apresentado nas próximas secções.

Em conclusão, as variações de pH da solução durante a extracção podem ser minimizadas usando as resinas na forma Na^+ ou ajustando o pH da mistura resina/solução quando as resinas são usadas na forma H^+ .

Tabela III.5.3: Variação do pH durante a extracção com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 na forma Na^+ e H^+ .

	Amberlite CG-50		Chelex 100	
	pH inicial	pH final	pH inicial	pH final
Forma Na^+	7,0	7,3	7,0	6,3
Forma H^+ (ajuste do pH da mistura resina/solução)	6,7	5,3	6,7	6,0

III.5.2.2. Influência da salinidade, da razão (massa de resina/volume de solução) e do tempo de extracção na fracção extraída por SPE

Os cátions maioritários presentes na água salgada podem, também, ser extraídos e, portanto, competir com os metais vestigiais no processo de extracção pelas resinas. Por outro lado, a água salgada contém grandes concentrações de ligandos inorgânicos que, ao complexar os cátions metálicos, poderão dificultar a extracção destes mesmos pelas resinas sobretudo no caso de uma resina mais fraca como a Amberlite CG-50. Assim, mesmo na ausência de ligandos orgânicos, é possível que não se consiga uma extracção total do metal em soluções salinas usando as mesmas condições que, em soluções não salinas, garantem uma extracção da totalidade do metal presente em solução.

De forma a estudar o efeito da matriz salina sobre a eficiência da extracção com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50, procedeu-se a extracção de cobre, cádmio e chumbo em duas soluções diferentes, uma preparada em água ultrapura e outra preparada em água salgada sintética de salinidade 26, ambas com as mesmas concentrações de metais e a $\text{pH} = 6,0-7,0$. As condições experimentais usadas neste estudo estão resumidas na Tabela III.5.4.

As percentagens de remoção de cobre, cádmio e chumbo obtidas com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50 nas duas soluções estão apresentadas na Tabela III.5.5 (os resultados apresentados são a média e o desvio padrão de pelo menos 3 réplicas).

Tabela III.5.4: Concentração total de metais em solução e condições experimentais utilizadas.

Concentração total de metais em solução	$[\text{Cu}]_{\text{total}} = 8,0 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Cd}]_{\text{total}} = 1,8 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Pb}]_{\text{total}} = 2,0 \times 10^{-6} \text{ M}$
Razão m_r/V_s	1 g.L^{-1} (0,15 g de resina em 150 mL de solução)
Tempo de extracção	1 hora
pH	Ajuste do pH da mistura resina/solução à uma valor de 6,0-7,0 por adição de Na_2CO_3

No caso das soluções preparadas em água ultrapura, todo o metal presente em solução é removido quer pela Chelex 100, quer pela Amberlite CG-50. No caso das soluções salinas, a Chelex 100 remove a totalidade do cobre presente em solução mas os outros dois metais não são totalmente removidos; com a Amberlite CG-50, nenhum dos três metais é completamente removido pela resina com as condições experimentais utilizadas. Assim, é possível concluir que a salinidade tem um efeito considerável sobre as quantidades de cationes extraídos pelas resinas. Esse efeito pode resultar do facto dos iões maioritários presentes na água salgada (Na^+ , Mg^{2+}) entrarem em competição com os cationes estudados para os sítios de fixação das resinas, apesar das resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 terem uma maior afinidade para o Cu^{2+} , o Cd^{2+} e o Pb^{2+} do que para estes cationes. No entanto, é também necessário ter em consideração a presença, na água salgada, de certos ligandos como o Cl^- ou o CO_3^{2-} que podem complexar os cationes estudados e dificultar a sua extracção pela resina. No caso da chelex 100, este efeito deverá ser pouco significativo tendo em consideração o facto desta resina ter grupos quelantes fortes. No entanto, a Amberlite CG-50, cujos grupos activos podem ser modelizados pelo ácido acético (*Pesavento et al. (1994)*), tem menor capacidade para competir com estes ligandos. Efectivamente, os complexos formados pelo Cl^- ou pelo CO_3^{2-} com os cationes estudados apresentam constantes de estabilidade superiores aos complexos formados pelo acetato com estes mesmos cationes.

Tabela III.5.5: Percentagens (%) de remoção, pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50, de cobre, cádmio e chumbo numa solução preparada em água ultrapura ou água salgada ; $m_r/V_s = 1\text{g.L}^{-1}$; 1 hora de extracção. Média de pelo menos três réplicas e desvio padrão respectivo.

	Matriz	Metal		
		Cobre	Cádmio	Chumbo
Chelex 100	Água ultrapura	100 ± 1	101 ± 1	101 ± 5
	Água salgada	$99,4 \pm 1,2$	$5,32 \pm 0,43$	$53,3 \pm 2,1$
Amberlite CG-50	Água ultrapura	101 ± 2	$99,4 \pm 2,7$	101 ± 2
	Água salgada	$11,2 \pm 1,0$	$0,661 \pm 0,502$	$48,9 \pm 2,6$

Em conclusão, a salinidade, devido a competição dos cátions maioritários para os sítios de fixação da resina ou a complexação dos cátions estudados pelos ligandos Cl^- e CO_3^{2-} , afecta a quantidade de metais extraídos pelas resinas, nomeadamente no caso de resinas menos fortes como a Amberlite CG-50.

Como aparece na Tabela III.5.5, uma razão m_r/V_s igual a 1g.L^{-1} e um tempo de extracção de 1 hora não permite extrair a totalidade dos cátions presente em solução no caso da água salgada sintética. Dois factores experimentais podem ser apontados como as causas prováveis para esta extracção incompleta. Por um lado, a proporção de resina usada poderá não ser suficiente para extrair todos os cátions estudados (Cu^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+}) na matriz salgada, uma vez que parte dos cátions maioritários presentes na água salgada são também extraídos. Por outro lado, o tempo necessário para se atingir um estado de equilíbrio na matriz salgada poderá ser maior que em água doce devido a maior complexidade do meio. Procedeu-se, então, a extracção da mesma solução anterior preparada em água salgada sintética, mas com uma razão m_r/V_s igual a 10 g.L^{-1} e com três tempos de extracção: 1, 4 e 24 horas. Na Tabela III.5.6, estão apresentadas as percentagens de remoção de cobre, cádmio e chumbo obtidas com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50 com essas condições experimentais

Tabela III.5.6: Percentagens (%) de remoção de cobre, cádmio e chumbo em água salgada obtidas com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 com vários tempos de extracção e $m_r/V_s = 10\text{ g.L}^{-1}$. Média de três réplicas e desvio padrão respectivo.

	Tempo de extracção	Cobre	Cádmio	Chumbo
Chelex 100	1 hora	$92,7 \pm 2,5$	$89,2 \pm 3,6$	103 ± 2
	4 horas	101 ± 3	100 ± 2	101 ± 1
	24 horas	100 ± 1	102 ± 2	$99,4 \pm 1,0$
Amberlite CG-50	1 hora	$90,2 \pm 1,4$	$92,8 \pm 1,2$	$99,6 \pm 1,1$
	4 horas	101 ± 2	$99,5 \pm 0,3$	$99,8 \pm 2,0$
	24 horas	102 ± 3	102 ± 1	$87,1 \pm 3,2$

Com uma razão m_r/V_s igual a 10 g.L^{-1} , as percentagens de remoção de cobre, de cádmio e de chumbo obtidas com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 são, qualquer que seja o tempo de extracção considerado, todas superiores a 85 % enquanto que com m_r/V_s igual a 1 g.L^{-1} , excepto no caso do cobre com a Chelex 100, todas as percentagens de remoção são inferiores à 50 % (ver Tabela III.5.3). Logo, é possível concluir que a razão m_r/V_s deverá ser escolhida tendo em consideração não só os níveis de concentração total dos metais estudados mas também o tipo de matriz considerada.

O tempo de contacto entre a resina e a solução extraída têm, também, influência sobre a eficiência da resina. Ao contrário do que acontece no caso da solução preparada em água ultrapura com uma razão $m_r/V_s = 1 \text{ g.L}^{-1}$, uma hora de extracção não é sempre suficiente para remover com as duas resinas estudadas a totalidade do cobre, cádmio e chumbo numa solução salina. Efectivamente, no caso da Chelex 100, tempos de contacto de 4 ou 24 horas permitem obter percentagens de remoção de 100% para os três metais aqui considerados, enquanto que, com uma hora de contacto, só se obtém 100% de remoção no caso do chumbo. No caso da Amberlite CG-50, só foi possível obter 100 % de remoção para os três metais com 4 horas de extracção. Esta diferença deve-se ao facto da água salgada ser uma matriz mais complexa que requer tempos de contacto mais longos (*Pai, 1988*). Efectivamente, como já foi referido, os metais presentes na água salgada encontram-se sob forma livre mas também sob a forma de complexos fracos, como por exemplo MCl_2 ou MCO_3 , cuja cinética de dissociação poderá ser mais ou menos rápida.

Em conclusão, as condições experimentais que permitem, na ausência de ligandos orgânicos, uma remoção total, pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 (na forma H^+), dos metais estudados, presentes em concentrações da ordem de 10^{-6} M , são:

- no caso de uma solução preparada em água ultrapura: razão $m_r/V_s = 1 \text{ g.L}^{-1}$; 1 hora de extracção;
- no caso de uma solução preparada em água salgada sintética: razão $m_r/V_s = 10 \text{ g.L}^{-1}$, 4 horas de extracção;

Em ambos os casos, o pH da mistura resina/solução devera ser ajustado a um valor próximo de 7,0 por adição de Na_2CO_3 .

III.5.3. Comparação da fracção livre e da fracção lábil de metal determinada por SPE em soluções sintéticas na presença de vários ligandos orgânicos

Sendo as condições definidas na secção anterior uma garantia de extracção total dos metais estudados na ausência de ligandos orgânicos, uma remoção inferior a 100 % aquando da aplicação das mesmas condições a soluções contendo ligandos orgânicos, poderá ser interpretada como reflexo da extensão da complexação por esses ligandos. A fim de compreender melhor de que forma a fracção extraída pela Chelex 100 e pela Amberlite CG-50 se relaciona com a extensão da complexação e a estabilidade dos complexos, foram realizadas experiências com várias soluções contendo diferentes ligandos orgânicos. Por outro lado, analisou-se o efeito da presença de outros metais em solução sobre a labilidade de um complexo.

III.5.3.1. Carácter operacional da fracção lábil de metal determinada por SPE

III.5.3.1.1. Introdução

Na maioria dos estudos de fraccionamento de metais em águas naturais realizados por SPE, considera-se que a fracção de metal extraído pela resina, chamada fracção lábil de metal, é constituída pelos cationes metálicos presentes na forma livre (aquo-complexos) ou complexados por uma certa categoria de ligandos que formam complexos dissociáveis durante a extracção (*Abollino et al., 2000; Pesavento et al., 2001; Liu e Ingle, 1989*). Desta maneira, esses autores consideram que os estudos por SPE com resinas permitem dividir os complexos em duas categorias: os complexos fracos que são dissociados durante o tempo de análise e cujo metal pode ser extraído pela resina e os complexos fortes que não são dissociados durante a extracção.

No entanto, *Vasconcelos et al. (1996)* mostraram que a natureza e as propriedades termodinâmicas de um ligando não constituem uma informação suficiente para prever a disponibilidade do metal ligado a este ligando, ou seja a sua labilidade. A extensão da dissociação de um complexo depende das características termodinâmicas e cinéticas do processo químico no qual este está envolvido, ou seja, no nosso caso, da natureza do ligando e

da resina considerada e ainda das razões metal/ligando e massa de resina/volume de solução, pois todos estes factores afectam a extensão da dissociação dos complexos presentes em solução (*Vasconcelos et al., 1996*). Logo, os complexos poderão ser classificados segundo a extensão da sua dissociação e não só em duas categorias de complexos dissociados ou não dissociados durante o tempo de extracção.

Vasconcelos e Azenha (1996) estudaram o carácter operacional da labilidade dos complexos metálicos com ligandos orgânicos simples mas limitaram-se ao caso do cobre. No presente trabalho, procedeu-se a um estudo similar em que se considerou não só o caso do cobre mas também o do cádmio e do chumbo e onde foram usados outros ligandos orgânicos. As resinas utilizadas foram a Chelex 100 e Amberlite CG-50, esta última não tendo sido estudada por *Vasconcelos e Azenha (1996)*. Foi assim possível alargar os resultados obtidos por *Vasconcelos e Azenha (1996)* a outros metais e outras resinas e, ainda, observar a influência da presença de outros metais sobre a fracção lábil.

III.5.3.1.2. Soluções e condições experimentais usadas

A fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo foi determinada em 3 soluções contendo, cada uma delas, os três metais em simultâneo e um ligando orgânico diferente: o NTA, o EDTA e o ácido cítrico. Estes ligandos foram escolhidos por terem constantes de estabilidade bem diferentes em relação aos metais aqui considerados. Escolheu-se trabalhar com uma concentração de ligando em excesso perante a concentração total de metal de modo a termos condições experimentais que reflectem as condições naturais.

A razão m_r/V_s utilizada foi de 3 g.L^{-1} com um tempo de extracção de uma hora e seguiu-se o protocolo descrito na secção 2.4.2 da parte experimental. Verificou-se na secção III.5.2.2, na ausência de ligandos, com uma razão m_r/V_s igual a 1 g.L^{-1} e com uma hora de extracção, que as duas resinas utilizadas neste estudo removem a totalidade dos metais presentes em soluções de metais em água ultrapura com concentrações em metais da mesma ordem de grandeza das concentrações utilizadas no presente estudo ($1 \times 10^{-6} \text{ M}$). Logo, é possível considerar que as condições utilizadas garantem uma remoção total dos metais presentes em solução na ausência de ligandos. A razão m_r/V_s usada neste trabalho foi de 3 g.L^{-1} e não o valor de 1 g.L^{-1} recomendado na secção anterior de forma a garantir um grande excesso de resina.

As soluções utilizadas neste estudo foram preparadas em água ultrapura e as suas composições estão apresentadas na Tabela III.5.7. Refere-se que as concentrações nas soluções utilizadas com a resina Amberlite CG-50 foram multiplicadas por 4 de modo a ser mais fácil a determinação da concentração de metal extraído, dada a menor extensão da extracção com esta resina. No entanto, conservaram-se as mesmas proporções metal/ligando.

Tabela III.5.7: Composição das soluções utilizadas no presente estudo.

	Solução A		Solução B		Solução C	
Ligando	NTA		EDTA		Ácido Cítrico	
Resina	Amberlite CG 50	Chelex 100	Amberlite CG 50	Chelex 100	Amberlite CG 50	Chelex 100
[ligando] (M)	$4,00 \times 10^{-5}$	$9,99 \times 10^{-6}$	$3,97 \times 10^{-5}$	$1,10 \times 10^{-5}$	$4,00 \times 10^{-5}$	$1,01 \times 10^{-5}$
[Cu] _{total} (M)	$8,00 \times 10^{-6}$	$2,08 \times 10^{-6}$	$8,13 \times 10^{-6}$	$2,02 \times 10^{-6}$	$8,13 \times 10^{-6}$	$1,95 \times 10^{-6}$
[Cd] _{total} (M)	$7,83 \times 10^{-6}$	$2,06 \times 10^{-6}$	$7,90 \times 10^{-6}$	$2,03 \times 10^{-6}$	$8,04 \times 10^{-6}$	$1,99 \times 10^{-6}$
[Pb] _{total} (M)	$8,05 \times 10^{-6}$	$2,03 \times 10^{-6}$	$8,01 \times 10^{-6}$	$2,05 \times 10^{-6}$	$7,88 \times 10^{-6}$	$2,03 \times 10^{-6}$
pH	6,5	6,6	7,0	6,9	6,3	6,9

III.5.3.1.3. Relação entre a fracção de metal livre e a fracção lábil de metal determinada por SPE

A especiação do cobre, do cádmio e do chumbo presente em cada uma das soluções foi determinada com a ajuda do programa de cálculos de Especiação CHEAQS (*Verweij, 1999*). Os valores das constantes de estabilidade usadas para esse cálculo estão apresentados no Anexo III. Foram usadas as constantes termodinâmicas sendo a correcção do valor feita pelo programa de calculo, após calculo da força iónica, usando a equação de *Davis*.

A percentagem de metal não complexado pelo ligando orgânico considerado, chamada neste trabalho fracção de metal livre, esta apresentada na Tabela III.5.8 na qual estão, também, apresentados os valores das fracções de metal lábil determinadas para cada solução e cada metal com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50. O valor da fracção de metal lábil apresentado é

a média de 3 réplicas (os valores do desvio padrão relativo são todos inferiores 4 %). A fracção lábil de metal foi calculada usando a fórmula seguinte:

$$\% \text{ metal lábil} = [M]_{\text{extraído}} / [M]_{\text{total inicial}} \times 100 \quad (\text{III.5.1})$$

onde $[M]_{\text{extraído}}$ corresponde a concentração de metal extraído pela resina e $[M]_{\text{total inicial}}$ corresponde a concentração total de metal na solução inicial.

No caso do cobre em que todo o metal se encontra sob a forma complexada nas três soluções, só foi possível determinar uma fracção lábil de metal no caso da solução C onde o ligando presente é o ácido cítrico. Da mesma forma, a quase totalidade do cádmio e do chumbo encontra-se sob forma complexada nas soluções A e B. No entanto, só foi possível determinar uma fracção lábil de cádmio e chumbo na solução B em que o ligando é o NTA. Assim a fracção lábil aqui determinada esta de acordo com a ordem das constantes de estabilidade dos complexos estudados. Considerando, o caso do chumbo com a Amberlite CG-50, em que, praticamente, todo o metal se encontra complexado pelo ligando, é possível ordenar, em termos de labilidade, os complexos formados com o chumbo na seguinte ordem: $\text{Pb(II)-citrato} > \text{Pb(II)-NTA} > \text{Pb(II)-EDTA}$, que segue a ordem inversa das constantes de estabilidade dos complexos $K_{\text{Pb(II)-citrato}} < K_{\text{Pb(II)-NTA}} < K_{\text{Pb(II)-EDTA}}$

Considerando o caso do NTA em que todo o metal presente em solução está complexado, só foi possível determinar uma fracção lábil de metal no caso do cádmio e do chumbo apesar das constantes de estabilidade dos complexos formados pelo NTA com os três metais estudados terem valores muito próximos. Logo, é possível concluir que a natureza do metal estudado tem, também, uma certa influência sobre a labilidade do complexos, uma vez que a eficiência de extracção das resinas depende do metal considerado, apesar deste se encontrar na totalidade complexado em solução. Efectivamente, as resinas têm afinidades diferentes para os três metais aqui considerados. Por outro lado, no caso do ácido cítrico, apesar do cobre e do cádmio terem fracções diferentes de metal livre em solução, a fracção lábil determinada com as resinas não reflecte a diferença de especiação do dois metais em solução. As fracções lábeis determinadas para estes dois metais são muito próximas sendo praticamente idênticas no caso da Amberlite CG-50. Assim, é possível concluir que a fracção lábil depende não só da especiação mas também da natureza do metal e da resina usada no método de fraccionamento.

Nos casos em que as soluções usadas com a Amberlite CG-50 e com a Chelex 100 têm fracções de metal livre com valores próximos (caso do cobre na solução C e do chumbo e do cádmio na solução A), foi possível comparar a fracção lábil de metal determinada com estas duas resinas. Como é possível verificar na Tabela III.5.8, nos casos acima referidos, a fracção lábil de metal determinada com a Chelex 100 é sempre maior do que a fracção lábil determinada com a resina Amberlite CG-50. Esta diferença explica-se pelo facto da resina Chelex 100 ser uma resina quelante cuja eficiência de extracção é superior à da Amberlite CG-50. Como já foi referido, devido aos grupos iminodiacéticos, a Chelex 100 compete com mais eficiência com os ligandos da solução do que a Amberlite CG-50 que contém apenas grupos carboxílicos pouco competitivos.

Tabela III.5.8: Fracção de metal livre e fracção lábil de metal determinada em cada solução com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50 no caso do cobre, do cádmio e do chumbo. Média de três réplicas.

			Cobre	Cádmio	Chumbo
Solução A (NTA)	Amberlite CG 50	Fracção livre	0 %	0,4 %	0 %
		Fracção lábil	0 %	47,2 %	51,0 %
	Chelex 100	Fracção livre	0 %	1,2 %	0 %
		Fracção lábil	0 %	97,7 %	56,3 %
Solução B (EDTA)	Amberlite CG 50	Fracção livre	0 %	0 %	0 %
		Fracção lábil	0 %	0 %	0 %
	Chelex 100	Fracção livre	0 %	0 %	0 %
		Fracção lábil	0 %	0 %	0 %
Solução C (Ácido Cítrico)	Amberlite CG 50	Fracção livre	0,8 %	30,3 %	2,3 %
		Fracção lábil	77,1 %	78,7 %	98,4 %
	Chelex 100	Fracção livre	1,5 %	45,5 %	36,4 %
		Fracção lábil	80,8 %	99,5 %	82,5 %

Todos estes resultados estão de acordo com os valores obtidos na secção III.4.3.2 onde se determinou por SPE a fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo em amostras de águas naturais.

Vasconcelos e Azenha (1996) realizaram um estudo similar, no caso do cobre, com vários ligandos no qual determinaram a fracção lábil de cobre em cada solução por SPE usando a resina Chelex 100 e outros compostos orgânicos. Como no presente trabalho, chegaram a conclusão que além das características termodinâmicas e cinéticas do próprio complexo ML inicialmente presente em solução, as características dos ligandos competitivos (no nosso caso, as resinas) podem ter influência sobre a dissociação dos complexos ML. O presente trabalho realizado com ligandos geralmente utilizados como modelos da matéria orgânica natural e com 3 metais (Cu, Cd e Pb) permitiu completar as conclusões anteriores mostrando que a fracção lábil determinada depende da natureza dos metais e da resina utilizada.

III.5.3.1.4. Extensão da dissociação dos complexos

Na secção anterior, considerou-se a influência da natureza do metal, do ligando e da resina sobre a fracção lábil determinada por SPE sem ter em consideração o grau de dissociação dos complexos durante a extracção. Nesta secção, será analisada a influência da resina sobre a extensão da dissociação dos complexos formados com os ligandos orgânicos estudados. Para esse efeito determinou-se a percentagem de dissociação do complexo usando a seguinte fórmula:

$$\% \text{dissociação} = \frac{[ML]_{\text{inicial}} - [ML]_{\text{final}}}{[ML]_{\text{inicial}}} \quad (\text{III.5.2})$$

onde $[ML]_{\text{inicial}}$ é a concentração em solução de metal complexado pelo ligando L antes da extracção pela resina e $[ML]_{\text{final}}$ é a concentração em solução de metal complexado pelo ligando L após a extracção.

Os valores (média de três réplicas) da percentagem de dissociação de cada complexo com cada resina estão apresentados na Tabela III.5.9. Os valores dos desvios padrão associados são todos inferiores à 5 %.

Tabela III.5.9: Percentagem (%) de dissociação dos complexos de cobre, cádmio e chumbo com os três ligandos orgânicos estudados durante a extracção (Média de três replicas).

	Solução A (NTA)		Solução B (EDTA)		Solução C (Ácido cítrico)	
	Amberlite CG-50	Chelex 100	Amberlite CG-50	Chelex 100	Amberlite CG-50	Chelex 100
Cobre	0	0	0	0	77,1	81,1
Cádmio	47,2	98,0	0	0	52,0	100
Chumbo	51,0	56,3	0	0	98,3	81,0

Como já foi referido, a Chelex 10 e a Amberlite CG-50 não são suficientemente fortes para provocar a dissociação dos complexos formados pelo EDTA. No caso do NTA e do ácido cítrico, os valores da percentagem de dissociação dos complexos de cobre e de cádmio provocada pela Chelex 100 são sempre superiores aos valores obtidos com a Amberlite CG-50, o que está de acordo com o facto desta resina ter uma menor eficiência de extracção do que a Chelex 100

No entanto, no caso dos complexos de chumbo com o ácido cítrico, verifica-se que os valores da percentagem de dissociação provocada pela Amberlite CG-50 são superiores aos valores obtidos com a Chelex 100. Uma explicação possível para este resultado deve-se ao facto da percentagem de chumbo livre em solução ser muito superior na solução usada com a Chelex 100, como se verifica na Tabela III.5.8. Logo, assumindo que o metal livre é o primeiro a ser extraído pela resina, os sítios de fixação da chelex 100 logo após o início da extracção terão uma maior ocupação do que os sítios de fixação da Amberlite CG-50. Segundo *Vasconcelos et al. (1996)*, o carácter polielectrico e a grande quantidade de sítios de fixação estão na origem da diminuição sistemática da constante de estabilidade microscópica da resina sempre que a fracção de sítios de fixação ocupados por cations metálicos aumenta. Assim, quanto maior for a quantidade de cations fixados pela Chelex 100 menor será a sua capacidade a competir com os ligandos orgânicos e provocar a sua dissociação.

Segundo certos autores (*Abollino et al., 2000; Pesavento et al., 2001; Liu e Ingle, 1989*), uma vez que a Chelex 100 (grupos quelantes) é mais forte do que a Amberlite CG-50 (grupos carboxilicos), a Chelex 100 será capaz de provocar a dissociação de certos complexos que não se dissociariam na presença da Amberlite CG-50. *Pesavento et al. (2001)* chegou a conclusão que a Amberlite CG-50 não é suficientemente forte para provocar a dissociação de certos

complexos que se dissociam na presença da resina Chelex 100. Contudo, verificou-se no presente trabalho que ambas as resinas provocam a dissociação dos complexos metálicos formados pelo cobre, cádmio e chumbo com o NTA e o ácido cítrico. Logo, as conclusões obtidas por *Pesavento et al. (2001)* com as mesmas resinas não se verificam com todos os ligandos orgânicos. A diferença significativa existente entre as duas resinas refere-se mais à extensão da dissociação provocada por cada uma delas. Efectivamente, no caso do NTA em que quase todo o catião metálico está complexado, a percentagem de dissociação do complexo formado com o Cd(II) e com o Pb(II) na presença de Chelex 100 é sempre superior à percentagem obtida na presença da Amberlite CG-50. No entanto, a resina mais fraca consegue sempre extrair parte do catião metálico complexado e, portanto, provoca sempre a dissociação de uma parte dos complexos.

Mostrou-se, assim, que as duas resinas estudadas distinguem-se não só pela sua capacidade a provocar ou não a dissociação dos complexos que depende das constantes de estabilidade dos complexos e das constantes de estabilidade microscópicas das resinas, mas sobretudo pela extensão da dissociação dos complexos que cada uma delas provoca.

III.5.3.2. Competição e interferências de outros metais na labilidade de complexos metálicos por SPE.

Vasconcelos e Azenha (1996), no estudo realizado sobre a influência da natureza do ligando sobre a labilidade dos complexos, consideraram apenas um metal – o cobre. Logo, não foi possível estimar a influência da presença de outros metais sobre a labilidade dos complexos. Para esse efeito, determinou-se, no presente trabalho a fracção lábil de um certo metal por SPE numa solução sintética com EDTA e na presença ou não de outros metais. Prepararam-se então várias soluções em água ultrapura (ver Tabela III.5.10) e utilizaram-se duas resinas: a Amberlite CG-50 e a Chelex 100 na forma H^+ . A fracção de catião metálico livre em solução, apresentada na Tabela III.5.10, entre parênteses, foi calculada para cada metal em cada solução com a ajuda do programa de cálculos de especiação CHEAQS (*Verweij, 1999*).

Nota-se que a proporção $[M]_{total}/[L]_{total}$ foi mantida constante nas quatro soluções. A razão m_r/V_s utilizada foi de 3 g.L^{-1} com um tempo de extracção de uma hora e seguiu-se o protocolo descrito na parte experimental.

Tabela III.5.10: Composição das soluções utilizadas no estudo da competição e interferências de outros metais sobre a labilidade dos complexos metálicos; o valor da fracção de catião metálico livre esta apresentado entre parênteses.

	Solução 1	Solução 2	Solução 3	Solução 4
[EDTA] (M)	$1,2 \times 10^{-5}$	4×10^{-6}	4×10^{-6}	4×10^{-6}
[Cu ²⁺] (M)	$8,0 \times 10^{-6}$ (11,5 %)	$8,0 \times 10^{-6}$ (50,0 %)	0	0
[Cd ²⁺] (M)	$8,0 \times 10^{-6}$ (96,0 %)	0	$8,0 \times 10^{-6}$ (50,0 %)	0
[Pb ²⁺] (M)	$8,0 \times 10^{-6}$ (42,5 %)	0	0	$8,0 \times 10^{-6}$ (50,0 %)

As razões (fracção de metal livre/fracção lábil de metal) determinadas para cada solução com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50 estão apresentadas na Tabela III.5.11; o valor da fracção de metal livre apresentado é a média de 3 réplicas (os valores do desvio padrão relativo são todos inferiores à 4 %). O valor da razão está, também, indicado entre parênteses.

No caso do cobre e do cádmio, os valores da razão (fracção de metal livre/fracção lábil de metal) são sempre maiores quando estão 3 metais presentes independentemente da resina considerada. Isto poderá ser devido, por um lado, a competição dos outros metais presentes na solução para os sítios de fixação da resina e por outro, a especiação dos metais em solução que vai ser afectada pela presença de outros metais. Assim, é possível concluir que a presença de outros metais em solução diminui a labilidade dos complexos Cu(II)/EDTA e Cd(II)/EDTA.

No caso do chumbo, observou-se a situação oposta ao caso do cobre e do chumbo. Assim, independentemente da fracção de chumbo livre em solução, a fracção lábil de chumbo determinada pelas duas resinas utilizadas é sempre maior quando se considera uma solução composta por vários metais. Chega-se, assim a conclusão que a labilidade do complexo Pb(II)/EDTA aumenta na presença de outros metais em solução.

Tabela III.5.11: Razão (fracção de metal livre (%)/fracção lábil de metal (%)) determinada em cada solução com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50.

	Chelex 100		Amberlite CG-50	
	3 metais (Solução 1)	1 metal (Solução 2,3,4)	3 metais (Solução 1)	1 metal (Solução 2,3,4)
Cobre	11,5/9,0 (1,27)	50,0/43,3 (1,15)	11,5/0	50,0/35,2 (1,42)
Cádmio	96,0/76,9 (1,24)	50,0/61,4 (0,814)	96,0/62,8 (1,53)	50,0/45,6 (1,10)
Chumbo	42,5/45,0 (0,944)	50,0/49,9 (1,00)	42,5/69,1 (0,615)	50,0/52,2 (0,957)

III.5.4. Conclusão

Este estudo mostrou que eficiência de extracção pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 depende de vários parâmetros experimentais como o tempo de extracção, a razão massa de resina/volume de solução ou a salinidade da solução. Determinou-se, assim, as condições experimentais que permitem, na ausência de ligandos orgânicos, a extracção, pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50, da totalidade do cobre, cádmio e chumbo presente em soluções salinas e não salinas com concentrações na ordem dos 10^{-6} M:

- solução não salina: razão $m_r/V_s = 1 \text{ g.L}^{-1}$; 1 hora de extracção;
- solução salina: razão $m_r/V_s = 10 \text{ g.L}^{-1}$, 4 horas de extracção.

Verificou-se, ainda, que, de forma a reduzir as variações de pH durante a extracção dos metais pelas resinas (variação que ocorre principalmente quando as concentrações de metais são elevadas (10^{-6} M)), é conveniente proceder ao ajuste do pH da mistura resina/solução. Por outro lado, este estudo permitiu mostrar que a fracção lábil determinada por SPE depende da natureza da resina utilizada, dos ligandos presentes em solução e do metal considerado e, ainda, da presença de outros metais. Efectivamente, verificou-se que, para quantidades idênticas de metal livre, a fracção lábil de cobre, de cádmio e de chumbo determinada com a Chelex 100 é sempre superior a fracção lábil determinada com a Amberlite CG-50.

A análise da extensão da dissociação dos complexos metálicos durante a extracção pelas duas resinas estudadas permitiu, também, mostrar que, além da sua capacidade a dissociar ou não

um complexo, as resinas vão provocar uma dissociação mais ou menos extensa dos ligandos. Assim, ao contrario do que foi adiantado por outros autores (*Pesavento et al., 2001*), duas resinas poderão provocar a dissociação do mesmo complexo sem, no entanto, extrair a mesma quantidade de metal envolvido nesse complexo porque o grau de dissociação provocada por cada uma das resinas pode ser diferente.

Finalmente, mostrou-se que a fracção lábil determinada por uma resina depende não só da especiação em solução do metal considerado mas também da especiação dos outros metais existentes em solução porque que, além, da competição entre os metais existente na solução para os vários ligandos naturais, existe também um competição entre metais para os sítios de fixação da resina.

III.6. Estudo por SPE da labilidade de complexos metálicos com a matéria húmica

III.6.1. Introdução

Verificou-se nos capítulos anteriores que a fracção lábil determinada pelos vários métodos de fraccionamento usados neste trabalho é operacionalmente definida e comparou-se, também, a fracção lábil obtida por aplicação a águas naturais, de cada um dos métodos de fraccionamento usados neste trabalho. Além disso, o valor da fracção lábil foi confrontado com a percentagem de metal livre apenas no caso de soluções sintéticas preparadas em água ultrapura com ligandos orgânicos como o EDTA ou o NTA. Contudo, esses ligandos são pouco comuns nas águas naturais cujos principais ligandos são substâncias húmicas. No entanto, não foi encontrado na bibliografia qualquer estudo realizado com ligandos húmicos semelhante aos estudos apresentados na secção III.5. No presente trabalho, comparou-se a fracção de cobre não complexado com ligandos orgânicos numa solução de ácidos húmicos e cobre em água salgada sintética (salinidade 13) com a fracção lábil de cobre determinada por extracção em fase sólida com duas resinas: a Chelex 100 e a Amberlite CG-50.

Este estudo implica a determinação da fracção de cobre livre em solução. No caso de uma solução não salina, essa fracção corresponde a todo o cobre não complexado por substâncias húmicas. No entanto, numa matriz salgada, parte do cobre vai ser complexado pelos ligandos inorgânicos presentes (Cl^- , CO_3^{2-}), logo a fracção de cobre não complexado por substâncias

húmicas corresponde ao cobre livre (catião metálico hidratado) mais o cobre complexado por ligandos inorgânicos. Esta fracção será denominada por fracção de cobre (livre + inorgânico). Como não são conhecidas as constantes de estabilidade dos complexos de cobre com a matéria húmica, não é possível determinar a especiação do cobre em solução por cálculo, sendo necessário a utilização de um método que permita determinar a concentração de cobre (livre + inorgânico) em solução. Existem várias técnicas que permitem determinar essa fracção de cobre (livre + inorgânico) em soluções não salinas, nomeadamente um método de equilíbrio com MnO_2 desenvolvido por *van den Berg (1982 e 1982a)* ou ainda técnicas voltamétricas com competição de ligando (*Scarano et al., 1992*). No presente trabalho, foi desenvolvido um método que permite determinar a concentração de cobre (livre + inorgânico) numa solução em equilíbrio com uma resina de troca catiónica: a Dowex 50W-X8.

Uma vez determinada a fracção de cobre (livre + inorgânico), se a concentração exacta de ligandos inorgânicos e de todos os catiões presentes em solução for conhecida, será possível determinar, com a ajuda do programa de cálculo de especiação “CHEAQS” (*verweij, 1999*), a fracção de cobre livre em solução (catião metálico hidratado) e comparar o seu valor com a fracção lábil de cobre determinado por SPE com as resinas Amberlite CG-50 e Chelex 100.

III.6.2. Teoria do método de determinação da fracção de metal (livre + inorgânico) numa solução salina de metal e substancias húmicas

Este método está baseado na determinação do coeficiente de distribuição condicional K_D' de um metal M entre uma resina de troca catiónica (a Dowex 50W-X8) e uma solução de composição idêntica à da amostra mas na ausência de substancias húmicas, seguida pela determinação da concentração de metal (livre + inorgânico) na amostra em equilíbrio com a resina.

a) Definição de K_D'

Como foi referido na secção III.1.4.2.2, o coeficiente de distribuição K_D de um metal M entre uma resina de troca catiónica e a solução é definido pela razão:

$$K_D = \frac{[M]_{\text{resina}}}{[M^{n+}]_{\text{livre}}} \quad (\text{III.6.1})$$

onde $[M]_{resina}$ é a concentração total de metal na resina (milimoles de metal por grama de resina) e $[M^{n+}]_{livre}$ a concentração de catião metálico hidratado (mol.L^{-1}) em solução.

A solução sintética de água do mar de salinidade 13, usada para este estudo, tem a seguinte composição:

$$\begin{array}{lll} [\text{Na}^+] = 0,265 \text{ M} & [\text{CO}_3^{2-}] = 2,450 \times 10^{-4} \text{ M} & [\text{SO}_4^{2-}] = 0,0203 \text{ M} \\ [\text{Mg}^{2+}] = 0,0203 \text{ M} & [\text{Cl}] = 0,265 \text{ M} & \end{array}$$

Logo, o catião metálico M^{n+} pode ser complexado pelos ligandos inorgânicos, pelo que não é possível considerar que, na ausência de ligandos orgânicos, todo o metal se encontra sob a forma de catião metálico hidratado. Assim, como já foi referido, é necessário, no nosso caso, considerar o metal presente na forma de catião hidratado e sob a forma de complexos inorgânicos.

Segundo *van den Berg (1982, 1982a)*, pode considerar-se que:

$$\begin{aligned} [M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}} &= [M^{n+}]_{\text{livre}} + [M(\text{OH})_2] + [\text{MOH}^+] + [\text{MCl}^+] \\ &\quad + [\text{MSO}_4] + [\text{MCO}_3] + [\text{M}(\text{CO}_3)_2] \end{aligned} \quad (\text{III.6.2})$$

Para cada ligando inorgânico L_i tem-se o seguinte equilíbrio (as cargas foram omitidas):



Se se definir β_i como constante de estabilidade global, tem-se:

$$\beta_i = \frac{[M(L_i)_n]}{[M^{n+}]_{\text{livre}} \times [L_i]^n} \quad (\text{III.6.4})$$

$$e \quad [M(L_i)_n] = \beta_i \times [M^{n+}]_{\text{livre}} \times [L_i]^n \quad (\text{III.6.5})$$

onde $[M(L_i)_n]$ é a concentração de complexo formado por M e pelo ligando L_i e $[L_i]$, a concentração de ligando L_i livre.

Combinando as equações (III.6.2) e (III.6.5), obtém-se:

$$[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}} = [M^{n+}]_{\text{livre}} (1 + \beta_{\text{OH}^-} [\text{OH}]^2 + \beta_{\text{OH}^-} [\text{OH}] + \dots)$$

$$[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}} = [M^{n+}]_{\text{livre}} \times a \quad \text{com } a = 1 + \sum (\beta_i \times [L_i]^{n_i})$$

e finalmente:

$$\boxed{[M^{n+}]_{\text{livre}} = [M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}} / a} \quad (\text{III.6.7})$$

Combinando as equações (III.6.1) e (III.6.7) obtém-se:

$$K_D = \frac{[M]_{\text{resina}}}{[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}}} \times a \quad (\text{III.6.8})$$

Logo, é possível definir um coeficiente de distribuição condicional, K_D' , dado por:

$$K_D' = \frac{[M]_{\text{resina}}}{[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}}} \quad (\text{III.6.9})$$

sendo

$$K_D' = K_D / a \quad (\text{III.6.10})$$

Assim, o valor de K_D' será constante se a for constante em todas as soluções consideradas, na presença e na ausência de ligandos orgânicos.

b) Procedimento para determinação da concentração de metal (livre + inorgânico) na presença de ligandos orgânicos

O valor de K_D' é determinado por equilibração da resina Dowex 50W-X8 com soluções de concentração variável de metal. É de referir que a composição destas soluções deve ser idêntica a da amostra estudada em termos de ligandos inorgânicos e cationes maioritários. O valor de $[M]_{\text{resina}}$ pode ser determinado por eluição da resina, ou por diferença entre a concentração de metal na solução antes e após equilibração com a resina, enquanto que o valor de $[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}}$ corresponde a todo o metal que ficou na solução após equilibração com a resina, o qual pode ser determinado directamente por F-AAS

Uma vez conhecido o valor de K_D' , é possível determinar a concentração de metal não complexado pelos húmicos, metal (livre + inorgânico), numa solução de metal e ácidos

húmicos em água salgada, após equilibração com a resina Dowex 50W-X8. Efectivamente, se se determinar a concentração de metal na resina, $[M]_{\text{resina}}$, a concentração de metal (livre + inorgânico) é dada por:

$$[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}} = [M]_{\text{resina}} / K_D' \quad (\text{III.6.11})$$

Uma das condições impostas por este método é que K_D' se mantenha constante e para isso a deve ser constante em todas as soluções usadas.

c) Condições necessárias à aplicação do método

Como foi visto na secções anteriores, o método aqui apresentado exige que certas condições sejam satisfeitas. Segue-se uma lista das condições necessárias para a aplicação do método:

- i) a força iónica e o pH devem ser mantidos constantes para garantir que o coeficiente de distribuição condicional K_D' seja constante;
- ii) a resina utilizada não deve remover completamente os metais em solução de forma a permitir a determinação da concentração de metal que fica em solução;
- iii) a resina deve estar presente em grande excesso para garantir que a quantidade de resina não é o factor limitante da extracção;
- iv) a concentração dos catiões maioritários presentes em solução deve ser mantida constante;
- v) não deve haver adsorção de metais complexados pelo ligando orgânico;
- vi) as experiências devem ser conduzidas na gama de concentração em catião metálico onde o K_D' é constante e que garante um excesso de resina;
- vii) a temperatura deve ser constante.

d) Verificação da aplicabilidade do método

Como já foi referido anteriormente, uma das condições impostas pelo método é que K_D' seja constante sendo para isso necessário que a seja constante em todas as soluções usadas.

Ora, a depende de β_i e de $[L_i]$ e, portanto, será constante se estes valores forem constantes. No caso presente, a é constante se $[\text{CO}_3^{2-}]$, $[\text{Cl}^-]$, $[\text{SO}_4^{2-}]$ e $[\text{OH}^-]$ forem constantes.

- $[\text{Cl}^-]$, $[\text{SO}_4^{2-}]$ e $[\text{CO}_3^{2-}]$

A concentração total de Cloreto ($[\text{Cl}^-] = 0,530 \text{ M}$) presente na solução sintética de água salgada usada, é muito superior à concentração total de M (no caso estudado $[\text{Cu}] \approx 10^{-6} \text{ M}$). Desta forma, a fracção de Cl^- envolvido em complexos com o M^{n+} será sempre desprezável perante a concentração total de cloreto e pode assumir-se que a presença de M^{n+} não faz variar a concentração total de cloreto livre em solução.

O cloreto pode, ainda, formar complexos com o Mg^{2+} e o Na^+ . As concentrações totais destes dois catiões, na solução estudada, são também muito elevadas, pelo que pode considerar-se que a concentração de catião livre é constante, tanto no caso do Mg^{2+} como do Na^+ : a fracção de catião envolvido em complexos com os ligandos presentes em solução será constante se a concentração de ligandos livres for constante. É de salientar que as constantes de estabilidade dos complexos NaCl e $(\text{MgCl})^+$ são muito baixas ($\text{Log } K_{\text{Na}^+} = -0,4$ e $\text{Log } K_{\text{Mg}^{2+}} = 0,2$), pelo que a concentração de catião complexado pelo Cl^- pode ser desprezada perante a concentração total de cada catião. Pode, então, concluir-se que a fracção de Cl^- complexado será sempre desprezável ou constante e, portanto, a concentração de cloreto livre em solução é constante.

O mesmo raciocínio pode ser aplicado ao caso do SO_4^{2-} e do CO_3^{2-} pelo que se pode concluir que as concentrações de Cl^- , SO_4^{2-} e CO_3^{2-} livre em solução são constantes.

- $[\text{OH}^-]$

O pH da solução em contacto com a resina é constante. Tem-se, assim, a relação:

$$\{\text{OH}^-\} = [\text{OH}^-] \times f_{\text{OH}^-} = \text{constante} \quad (\text{III.6.12})$$

onde $\{\text{OH}^-\}$ é a actividade do ião OH^- , $[\text{OH}^-]$ a sua concentração e f_{OH^-} o coeficiente de actividade.

Como $\{\text{OH}^-\}$ é constante, $[\text{OH}^-]$ também é constante se f_{OH^-} for constante. O coeficiente de actividade depende da força iónica da solução e, portanto, se a força iónica não variar, f_{OH^-} é constante.

$$\text{A força iónica } I \text{ é definida pela seguinte relação: } I = \frac{1}{2} \times \sum_i (z_i^2 \times [X_i]) \quad (\text{III.6.13})$$

em que z_i é a carga do ião X_i e $[X_i]$ representa a concentração do ião i .

$$\text{Logo, tem-se: } I = \frac{1}{2} ([\text{Na}^+] + 4[\text{Mg}^{2+}] + [\text{Cl}] + 4[\text{CO}_3^{2-}] + 4[\text{SO}_4^{2-}] + [\text{OH}] + n^2[\text{M}^{n+}] + [\text{NO}_3^-]) \quad (\text{III.6.14})$$

Os iões NO_3^- provêm do padrão de metal em que os metais M^{n+} estão presentes na forma $M(\text{NO}_3)_n$. O pH da solução estudada tem um valor próximo de 7,0 (pH das águas naturais), daí que a concentração de OH^- seja da ordem de grandeza de 10^{-7} M, muito inferior à concentração dos outros iões. Da mesma forma, a concentração de M^{n+} e NO_3^- também é desprezável perante as outras concentrações. Pode, então, assumir-se que : $I = \frac{1}{2} ([\text{Na}^+] + 4[\text{Mg}^{2+}] + [\text{Cl}] + 4[\text{CO}_3^{2-}] + 4[\text{SO}_4^{2-}])$. Já foi mostrado que todas estas concentrações são constantes e, portanto, pode considerar-se que a força iónica da solução também é constante. Demonstrou-se, desta forma, que a concentração de OH^- livre em solução será constante se o pH se mantiver constante.

Mostrou-se que todos os catiões e aniões maioritários presentes em solução têm concentrações constantes e, portanto, que a é constante. Logo, é possível considerar que K_D' é constante nas condições experimentais usadas.

III.6.3. Determinação do coeficiente de distribuição K_D' do cobre na resina Dowex 50W-X8

Como já foi referido, a primeira etapa do método definido neste trabalho consiste em determinar o coeficiente de distribuição K_D' entre a resina Dowex 50W-X8 e uma solução de cobre em água salgada sintética, na ausência de substâncias húmicas. O valor K_D' é obtido pelo declive da recta $[M]_{\text{resina}} = f([M]_{\text{livre+inorgânico}})$. Procedeu-se, então, à extracção pela Dowex 50W-X8, na forma $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$, do cobre presente em várias soluções de água salgada sintética com diferentes concentrações de cobre. Usou-se uma razão m_r/V_s igual a 20 g.L^{-1} e o pH da mistura resina/solução foi ajustado a 7,0 por adição de NaOH (0,1 M). *Brown et al. (1999)* mostraram que este valor de m_r/V_s garante um excesso de resina no caso de uma solução não salina com concentrações de cobre próximas das usadas no nosso trabalho. Uma vez que a resina foi equilibrada com os catiões maioritários da água salgada, estes últimos não são extraídos pela resina pelo que apenas o cobre será extraído. Logo, é possível considerar que este valor de m_r/V_s garante, no nosso caso, um excesso suficiente de resina. Os resultados obtidos, em duas experiências independentes, estão apresentados na Figura III.6.1 e na Tabela III.6.1.

Como é possível verificar, na ausência de substâncias húmicas, a relação entre a quantidade de cobre em solução e a quantidade de cobre removido pela resina ao equilíbrio é linear para concentrações de cobre em solução inferiores a $2,1 \times 10^{-5}$ M. Para concentrações superiores a este valor, a relação deixa de ser linear. Em consequência, este método só pode ser utilizado com soluções cuja concentração de cobre após equilibração com a resina seja inferior a $2,1 \times 10^{-5}$ M.

O valor de $K_D' = 76,5$ utilizado no resto deste trabalho corresponde à média dos dois valores determinados experimentalmente. *Brown et al. (1999)* determinaram o valor de K_D (Cu^{2+}) para a mesma resina na forma Na^+ numa solução de água ultrapura com força iónica ajustada com NaNO_3 . O valor obtido a pH 6,0 foi de (1430 ± 10) . Um valor de K_D' mais baixo, obtido neste trabalho, está de acordo com o facto de 22% do cobre estar complexado por ligandos inorgânicos (Cl^- , SO_4^{2-} , OH^-) na solução sintética de água salgada.

O pH inicial das misturas resina/solução foi ajustado a 7,0 e registou-se o pH final da solução. Verificou-se que todos os valores medidos eram superiores ou iguais a 6,0. Esta variação de pH não ira afectar o valor da força iónica que deve ser mantida constante, uma vez que as concentrações dos iões OH^- e H^+ continuam a ser desprezáveis perante os outros iões em solução. Por outro lado, verificou-se, ao efectuar cálculos da especiação inorgânica do cobre com valores de pH iguais a 6 e 7, que esta pequena variação de pH tem um efeito não significativo sobre a especiação do cobre em solução.

Tabela III.6.1: Valor experimental do coeficiente de distribuição K_D' (Cu^{2+}) da resina Dowex 50W-X8 na forma $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ a pH 7,0 e outros parâmetros da recta $[M] = f([M]_{\text{livre}} + \text{inorgânico})$.

	Réplica A	Réplica B
K_D' (declive)	$77,2 \pm 1,2$	$75,8 \pm 1,1$
Ordenada na origem	$2 \times 10^{-5} \pm 2 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-5} \pm 2 \times 10^{-5}$
r (N)	0,999 (6)	0,999 (7)

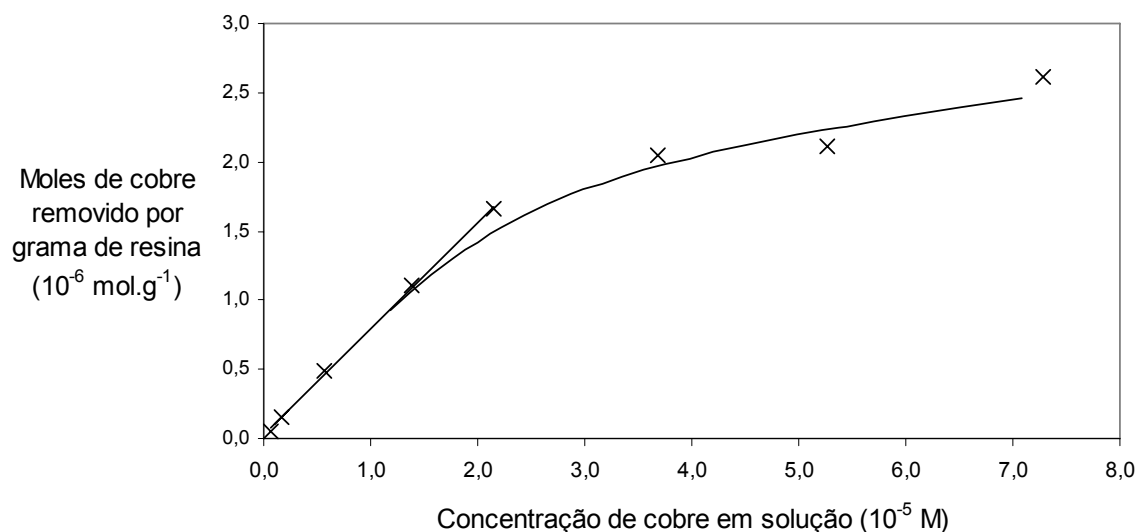


Figura III.6.1: Isotérmica de adsorção do cobre pela resina Dowex 50W-X8 na forma $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ numa solução sintética de água salgada a pH 7,0.

III.6.4. Aplicação do método à determinação de $[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}}$ numa solução de metal e ligandos orgânicos em água salgada

O método que permite determinar $[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}}$ numa solução equilibrada com a resina Dowex 50W-X8 foi, primeiro, aplicado a uma solução sintética de água salgada, cobre e ácido cítrico. Os resultados obtidos foram comparados com os valores calculados com um programa de cálculo de especiação (CHEAQS) (Verweij, 1999) permitindo assim testar a fiabilidade do método.

III.6.4.1. Validação do método com uma solução de cobre e ácido cítrico em água salgada sintética

O método de determinação de $[M]_{\text{livre} + \text{inorgânico}}$ numa solução em equilíbrio com a resina Dowex 50W-X8 foi testado com uma solução de cobre e ácido cítrico em água salgada sintética. Para esse efeito, foram preparadas duas soluções sintéticas com concentrações em cobre e em ácido cítrico diferentes: a solução A com $[\text{Cu}] = 1,02 \times 10^{-5}$ e $[\text{ácido cítrico}] = 9,46 \times 10^{-5}$ M e a solução B com $[\text{Cu}] = 3,02 \times 10^{-5}$ e $[\text{ácido cítrico}] = 9,33 \times 10^{-5}$ M. Estas duas soluções foram depois

equilibradas com a resina e determinou-se, então, a concentração de cobre livre e inorgânico na solução final após equilíbrio. Realizaram-se 3 réplicas para cada solução; os resultados obtidos estão apresentados na Tabela III.6.2. O pH inicial das misturas solução/resina foi ajustado a 7,0 por adição de NaOH (0,1 M). O pH das misturas foi novamente medido no fim da extração (ao equilíbrio) tendo-se registado um valor médio de $6,3 \pm 0,1$. Este valor de pH foi o valor utilizado nos cálculos da concentração de cobre livre por ser o valor de pH registado ao equilíbrio.

Pode verificar-se na Tabela III.6.2 que a concentração total de cobre nas soluções A e B após equilíbrio com a resina é sempre inferior a $2,1 \times 10^{-5}$ M, valor de concentração máximo para o qual o valor de K_D' aqui determinado pode ser utilizado. Os resultados experimentais apresentam pouco variabilidade (variações sempre inferiores a 2%). Os valores calculados de cobre (livre + inorgânico) foram determinados com o programa de calculo CHEAQS (Verweij, 1999). A diferença máxima entre os valores calculados e os valores experimentais foi calculada da forma seguinte:

$$\text{diferença} = \frac{|\text{valor experimental} - \text{valor calculado}|}{\text{valor máximo}} \times 100 \quad (\text{III.6.12})$$

Tabela III.6.2: Valores experimentais e calculados da concentração de cobre (livre + inorgânico) nas soluções A e B em equilíbrio com a resina.

	Solução A	Solução B
[Cu] total na solução em equilíbrio com a resina (M)	$5,77 \times 10^{-6}$	$1,68 \times 10^{-5}$
	$5,85 \times 10^{-6}$	$1,66 \times 10^{-5}$
	$5,77 \times 10^{-6}$	$1,64 \times 10^{-5}$
[Cu] _{livre + inorgânico} na solução em equilíbrio com a resina – Valor experimental (M)	$2,88 \times 10^{-6}$	$8,68 \times 10^{-6}$
	$2,85 \times 10^{-6}$	$8,64 \times 10^{-6}$
	$2,83 \times 10^{-6}$	$8,37 \times 10^{-6}$
[Cu] _{livre + inorgânico} na solução em equilíbrio com a resina – Valor calculado (M)	$2,97 \times 10^{-6}$	$8,93 \times 10^{-6}$
	$3,01 \times 10^{-6}$	$8,82 \times 10^{-6}$
	$2,97 \times 10^{-6}$	$8,72 \times 10^{-6}$
Diferença entre os valores experimentais e calculados (%)	3	3
	5	2
	5	4

Os valores de diferença obtidos são todos inferiores à 6 %. Pode, então, concluir-se que este método apresenta grande eficiência para determinação da fracção de metal (livre + inorgânico) numa solução salina equilibrada com a resina Dowex 50W-X8.

III.6.4.2. Aplicação do método a soluções de cobre e ácidos húmicos em água salgada sintética

Após um primeiro trabalho de validação do método com uma solução de cobre e ácido cítrico, o método foi aplicado a uma solução de cobre e ácidos húmicos preparada em água salgada sintética de salinidade 13. Esta solução tem uma composição mais semelhante a composição das águas naturais encontradas num sistema estuarino como a Ria de Aveiro embora os ácidos húmicos utilizados sejam ácidos húmicos comerciais (*Fluka*). Prepararam-se duas soluções cuja composição está descrita na Tabela III.6.3.

Tabela III.6.3 : Composição das soluções de cobre e ácidos húmicos em água salgada.

	[Cu] total	[ácidos húmicos]
Solução 1	$8,19 \times 10^{-6}$ M	3,45 mg.L ⁻¹
Solução 2	$8,27 \times 10^{-6}$ M	17,2 mg.L ⁻¹

Procedeu-se à determinação da concentração de cobre livre e inorgânico na solução equilibrada com a resina Dowex 50W-X8 na forma Na⁺/Mg²⁺. Foram realizadas duas réplicas para cada solução. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela III.6.4. Lembra-se que a fracção de cobre (livre + inorgânico) corresponde a todo o Cu(II) não complexado pelos ácidos húmicos, ou seja o Cu(II) livre (catião metálico hidratado) e o Cu(II) complexado pelos ligandos inorgânicos.

A concentração total de cobre é idêntica nas duas soluções enquanto que a concentração de ácidos húmicos foi multiplicada por 5 da solução 1 para solução 2. No entanto, a quantidade de Cu(II) complexado pelos ácidos húmicos na solução 2 representa apenas o triplo da quantidade de Cu(II) complexada na solução 1. Por um lado, este efeito pode reflectir a competição entre os ligandos inorgânicos e os ácidos húmicos na complexação do cobre. Por outro, é possível presumir que parte dos ácidos húmicos formam complexos com outros

catiões que não o Cu(II). Os únicos outros catiões presentes em solução são os catiões majoritários presentes na água salgada: o Na^+ e o Mg^{2+} . Pode, então, concluir-se que existe uma certa competição entre os catiões majoritários da água salgada - Mg^{2+} e Na^+ - e o Cu(II) para os locais de complexação dos ácidos húmicos.

Tabela III.6.4: Concentração de cobre total e de cobre livre e inorgânico na solução em equilíbrio com a resina Dowex 50W-X8 na forma Na^+/Mg .

	[Cu] total em solução ao equilíbrio (M)	[Cu] _{livre + inorgânico} em solução ao equilíbrio (M)	% de cobre livre + inorgânico em solução ao equilíbrio
Solução 1	$3,65 \times 10^{-6}$	$2,96 \times 10^{-6}$	81
	$3,57 \times 10^{-6}$	$3,04 \times 10^{-6}$	85
Solução 2	$4,91 \times 10^{-6}$	$2,15 \times 10^{-6}$	44
	$4,83 \times 10^{-6}$	$2,10 \times 10^{-6}$	43

III.6.5. Comparação da fracção lábil determinada por extracção em fase sólida com a fracção de metal livre e inorgânico na presença de ligandos húmicos

Este estudo foi realizado em duas etapas; primeiro, determinou-se a concentração de cobre (livre + inorgânico) na solução final resultante da equilibração com a Dowex 50W-X8 e numa segunda fase, a fracção lábil de cobre, na mesma solução, foi determinada por SPE com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50.

III.6.5.1. Determinação da concentração de cobre livre e inorgânico

Foi determinada a concentração de cobre livre e inorgânico na solução equilibrada com a resina Dowex 50W-X8 usando o método apresentado neste trabalho. A solução inicial foi preparada em água salgada de salinidade de 13 e tem a seguinte composição: $[\text{Cu}]_{\text{total}} = 8,2 \times 10^{-6}$ M; [ácidos húmicos] = 17,5 mg.L⁻¹. Esta solução foi agitada com a resina Dowex 50W-X8 numa razão $m_r/V_s = 20$ g.L⁻¹ durante 24 horas até se atingir o equilíbrio. A solução equilibrada com a resina foi utilizada em todo este estudo como amostra sintética. Foi nessa amostra

sintética que se determinou, primeiro a fracção de cobre (livre + inorgânico) e depois a fracção lábil de cobre.

O pH inicial da mistura resina/solução foi ajustado a um valor próximo de 7,0 por adição de Na_2CO_3 e procedeu-se como descrito na parte experimental. Os resultados obtidos (média e desvio padrão respectivo) estão apresentados na Tabela III.6.5.

O método apresentado neste capítulo permite determinar a concentração de metal não complexado pelo ligando estudado, no caso presente os ácidos húmicos mas não permite determinar directamente a concentração de metal livre em solução. Por essa razão, apresentou-se na Tabela III.6.5, a concentração de cobre não complexado pelos ácidos húmicos determinada com este método (cobre livre + inorgânico) e a concentração de cobre livre determinada, por cálculo, à partir do valor da concentração de cobre (livre + inorgânico), com o programa CHEAQS (*Verweij, 1999*)

A solução, denominada amostra sintética, na qual vai ser determinada a concentração da fracção lábil de cobre por SPE com a Chelex 100 e a Amberlite CG-50 é a solução equilibrada com a Dowex 50W-X8. Nessa solução, cerca de 53 % do cobre está complexado com os ligandos húmicos (Tabela III.6.5). Dos 47 % restantes, cerca de 71 % esta na forma livre (catião metálico hidratado), o que representa apenas 33 % da concentração total de cobre em solução.

Tabela III.6.5: Resultados da determinação da concentração de metal livre por equilíbrio com a Dowex 50W-X8 na solução estudada (média e desvio padrão de três réplicas).

Concentração total de cobre na solução equilibrada com a Dowex 50W-X8	$(4,7 \times 10^{-6} \pm 9,6 \times 10^{-8}) \text{ M}$
Concentração de cobre não complexado pelos ácidos húmicos na solução equilibrada com a Dowex 50W-X8 (concentração de cobre livre + inorgânico)	$(2,21 \times 10^{-6} \pm 4,7 \times 10^{-8}) \text{ M}$
Concentração de cobre livre na solução equilibrada com a Dowex 50W-X8	$(1,57 \times 10^{-6} \pm 3,2 \times 10^{-8}) \text{ M}$
pH da solução ao equilíbrio	$6,8 \pm 0,2$

III.6.5.2. Fracção lábil de cobre determinada por extracção em fase sólida

A fracção lábil de cobre na amostra sintética foi determinada por extracção em fase sólida em “batch” com duas resinas: a Chelex 100 e a Amberlite CG-50. As duas resinas foram previamente lavadas com ácido e equilibradas com os catiões maioritários da solução extraída (Na^+ e Mg^{2+}). O pH da mistura resina/solução foi ajustado a cerca de 7,0 por adição de NaOH (0,1 M) de forma a minimizar as variações de pH durante a extracção e usou-se uma razão m_r/V_s igual a 10 g.L^{-1} . Como se verificou na secção III.5.2.2, esta razão m_r/V_s garante que, na ausência de ligandos orgânicos, a totalidade do cobre presente numa solução salina é extraída pelas resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50. Para cada resina, foram realizadas 3 réplicas e dois brancos. Os brancos de extracção determinados para as duas resinas apresentavam todos valores inferiores ao limite de detecção do método analítico (F-AAS). O pH final da mistura resina/solução era de 5,4 no caso da Amberlite CG-50 e de 6,2 no caso da Chelex 100. Na Tabela III.6.6 estão apresentados os resultados obtidos com as duas resinas.

A fracção de cobre lábil determinada com a Amberlite CG-50 representa 84 % da concentração total de cobre enquanto que a fracção determinada com a Chelex 100 representa 99 % da concentração total. A fracção lábil de cobre determinada com a Chelex 100 é superior a fracção lábil determinada com a Amberlite CG-50, o que está de acordo com resultados anteriores obtidos para a fracção lábil de cobre em águas naturais e em soluções não salinas de cobre e ligandos orgânicos não húmicos.

Tabela III.6.6 : Fracção lábil de metal (concentração e percentagem em relação a concentração total de metal) determinada por extracção em fase sólida com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50.

	Chelex 100	Amberlite CG-50
$[\text{Cu}]_{\text{lábil}}$	$4,64 \times 10^{-6} \pm 3,04 \times 10^{-8} \text{ M}$	$3,96 \times 10^{-6} \pm 8,21 \times 10^{-8} \text{ M}$
$\%_{\text{lábil}}$	99 %	84 %

Em ambos os casos, a concentração da fracção lábil é muito superior à concentração de cobre (livre+ inorgânico) e, no caso da Chelex 100, próxima da concentração total de cobre em solução. Pode, então, concluir-se que estas duas resinas permitem extrair uma parte, no caso da Amberlite CG-50, ou quase a totalidade, no caso da Chelex 100, do cobre complexado

pelos ácidos húmicos. Assim, a utilização destas duas resinas permite determinar fracções diferentes de cobre em solução. A utilização da Amberlite CG-50 é, no caso estudado, particularmente interessante, uma vez que permite determinar uma fracção de metal menor que a fracção determinada com a Chelex 100 e cujo valor é significativamente diferente da fracção total de cobre. Será então recomendável usar a Amberlite CG-50 em vez da Chelex 100, quando se pretende determinar o fraccionamento de metais em soluções ou amostras de águas naturais com ligandos fracos e/ou que se dissociam facilmente.

III.6.6. Conclusão

O método de determinação da concentração de metal livre e inorgânico numa solução equilibrada com a Dowex 50W-X8 apresenta bons resultados que foram validados com um programa de cálculos de equilíbrios, numa solução contendo ácido cítrico. Assim, este método representa uma boa alternativa para determinação da especiação de metais em soluções salinas. Uma experiência com ácidos húmicos comerciais mostrou o interesse e a capacidade deste método para estudos de caracterização de ligandos naturais. No entanto, existem ainda certas limitações a utilização deste método nomeadamente a gama de concentrações para as quais o K_D ou K_D' é constante.

Este método permitiu, ainda, comparar a fracção lábil determinada por SPE com duas resinas e a fracção de metal livre numa solução contendo cobre e ácidos húmicos. Chegou-se assim a conclusão que a fracção lábil obtida por SPE é muito superior a fracção de metal livre em solução. Contudo, existem várias limitações que não permitem generalizar os resultados aqui obtidos às condições naturais. Efectivamente, os níveis de concentração de metais e de ligando considerados neste estudo são muito superiores aos níveis naturais, além de não terem sido usadas proporções metal/ligando com valores próximos do valores encontrados nas águas naturais, parâmetro que tem uma grande influência sobre a extensão da dissociação dos complexos. De facto, nas águas naturais, os ligandos húmicos estão em grande excesso relativamente aos metais vestigiais. Assim, seria interessante realizar o mesmo tipo de trabalho com matéria húmica natural e com condições experimentais que simulem melhor as condições naturais.

III.7. Referências

- ABBASSE G., OUDDANE B., FISCHER J.C., **2002**, Determination of total and labile fraction of metals in seawater using solid phase extraction and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 17, 1354-1358.
- ABBASSE G., OUDDANE B., FISCHER J.C., **2003**, Determination of trace metal complexes by natural organic and inorganic ligands in coastal seawater. *Analytical Sciences*, 19, 529-535.
- ABOLINO O., ACETO M., SARZANINI C., MENTASTI E., **2000**, The retention of metal species by different solid sorbents mechanisms for heavy metal speciation by sequential three column uptake. *Analytica Chimica Acta*, 411, 223-237.
- ABOU-EL-SHERBINI K.S., KENAWY I.M.M., HAMED M.A., ISSA R.M., ELMORSI R., **2002**, Separation and preconcentration in a batch mode of Cd(II), Cr(III, VI), Cu(II), Mn(II, VII) and Pb(II) by solid-phase extraction by using of silica modified with N-propylsalicylaldehyde. *Talanta*, 58, 289-300.
- ACHTERBERG E.P., HERZL V.M.C., BRAUNGARDT C.B., MILLWARD G.E., **2003**, Metal behaviour in an estuary polluted by acid mine drainage: the role of particulate matter. *Environmental Pollution*, 121, 283-292.
- ACHTERBERG E.P., van den BERG C.M.G., COLOMBO C., **2003a**, High resolution monitoring of dissolved Cu and Co in coastal surface waters of the Western North Sea. *Continental Shelf Research*, 23, 611-623.
- APTE S., BATLEY G.E., **1995**, Trace metal speciation of labile chemical species in natural waters and sediments: non electrochemical approaches. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*; Tessier a., Turner D.R., John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- APTE S.C., GARDNER M.J., RAVENSCROFT J.E., TURRELL J.A., **1990**, Examination of the range of copper complexing ligands in natural waters using a combination of cathodic stripping voltammetry and computer simulation. *Analytica Chimica Acta*, 235, 287-297.
- ASTER S.R., **1978**, *Estuarine Chemistry*. Academic Press, London.
- BAFFI F., CARDINALE A.M., BRUZZONE R., **1992**, Preconcentration of chromium, copper and manganese from sea water on pretreated solid materials for determination by atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 270, 79-86.
- BALDWIN R.P., CHRISTENSEN J.K., KRYGER L., **1986**, Voltammetric determination of traces of Nickel (II) at a chemically modified electrode based on dimethylglyoxime-containing carbon paste. *Analytical Chemistry*, 58, 1798-1790.
- BARD A.J., FAULKNER L.R., **1980**, *Electrochemical Methods, Fundamentals and applications*. John Wiley & sons, Inc, New York.
- BAREK J., FOGG A.G., MUCK A., ZIMA J., **2001**, Polarography and voltammetry at mercury electrodes. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31, 291-309.

- BATLEY G.E., GARDNER D., **1978**, A study of copper, lead and cadmium speciation in some estuarine and coastal marine waters. *Estuarine Coastal Marine Science*, 7, 59-65.
- BATLEY G.E., **1989**, Physicochemical separation methods for trace element speciation in aquatic samples. In *Trace Element Speciation: Analytical Methods and Problems*; B. G.E., CRC Press, Boca Raton.
- BAZZI A., LEHMAN J.T., NRIAGU J.O., HOLLANDSWORTH D., IRISH N., NOSHER T., **2002**, Chemical speciation of dissolved copper in Saginaw Bay, Lake Huron, with square wave anodic stripping voltammetry. *Journal of Great Lakes Research*, 28, 466-478.
- BETTI M., PAPOFF P., **1988**, Trace-elements-data and information in the characterization of an aqueous ecosystem. *CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 19, 271-322.
- BEVERIDGE A., PICKERING W.F., **1980**, Influence of humate-solute interactions on aqueous heavy metal ion levels. *Water, Air and Soil Pollution*, 14, 171-185.
- BIO-RAD laboratories, **2000**, *Chelex[®]100 and Chelex 20 Chelating Ion exchange Resin, Instruction Manual*.
- BOTELHO C.M.S., BOAVENTURA R.A.R., GONCALVES M.D.S.S., **2002**, Copper complexation with soluble and surface freshwaters ligands. *Electroanalysis*, 14, 1713-1721.
- BOTTA D., MANTICA E., **1999**, Micropollutants migration from ion-exchange resins into water. *Water Research*, 33, 1054-1064.
- BOUSSEMART M., van den BERG C.M.G., **1991**, Determination of chromium speciation in seawater. *Analytical Procedure*, 28, 68.
- BOUSSEMART M., van den BERG C.M.G., GHADDAF M., **1992**, The determination of the Chromium speciation in sea-water using Catalytic Catodic Stripping Voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 262, 103-115.
- BRAININA K., NEWMAN E., **1993**, *Electrochemical Stripping Methods*. John Wiley & Sons Inc - New York.
- BRAININA Kh. Z., MALAKHOVA N. A., STOJKO N., **2000**, Stripping voltammetry in environmental and food analysis. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 368, 307-325.
- BROWN G.K., MacCARTHY P., LEENHEER J.A., **1999**, Simultaneous determination of Ca, Cu, Ni, Zn and Cd bindings strengths with fulvic acid fractions by Schubert's method. *Analytica Chimica Acta*, 402, 169-181.
- BRULAND K. W., **1989**, Complexation of zinc by natural organic ligands in the Central North Pacific. *Limnology and Oceanography*, 34, 269-285.
- BRULAND K. W., RUE E.L., DONAT J.R., SKRABAL S.A., MOFFETT J.W., **2000**, Intercomparaison of voltammetric techniques to determine the chemical speciation of dissolved copper in a coastal seawater sample. *Analytica Chimica Acta*, 405, 99-113.
- BUCKLEY J.A., **1994**, The bioavailability of copper in waste-water to Lemna-Minor with biological and electrochemical measures of complexation. *Water Research*, 28, 2457-2467.
- BUFFLE J., **1988**, *Complexation Reactions in Aquatic Chemistry*. Ellis Horwood/John Wiley & Sons, Chichester.

- BUFFLE J., VUILLEUMIER J.J., TERCIER M.L., PARTHASARATHY N., **1987**, Voltammetric study of humic and fulvic substances. V. Interpretation of metal ion complexation measured by anodic stripping voltammetric methods. *Science of The Total Environment*, 60, 75-96.
- BUFFLE J., ALTMANN R.S., **1987**, Interpretation of metal complexation by heterogeneous complexants in aquatic surface chemistry. In *Aquatic Chemistry*; STUMM W., MORGAN J., Wiley, New York.
- BUFFLE J., WIKINSON K. J., TERCIER M. L., PARTHASARATHY N., **1997**, In situ monitoring and speciation of trace metals in natural waters. *Società Chimica Italiana*, 87, 67-82.
- CAMPBELL P.G.C., **1995**, Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free-ion activity model. In *Metal Speciation and bioavailability in aquatic systems*; Tessier A., Turner D.R., John Wiley & sons, Chichester.
- CAMPOS M.L.A.M., van den BERG C.M.G., **1994**, Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldoxime. *Analytica Chimica Acta*, 284, 481-496.
- CANTERFORD G.S., CANTERFORD D.R., **1980**, Toxicity of heavy metals to the marine diatom *Ditylum brightwelli* (West) Grunow: correlation between toxicity and metal speciation. *Journal of Marine Biological Association UK*, 60, 227-242.
- CAPODAGLIO G., TOSCANO G., SCARPONI G., CESCONE P., **1989**, Lead speciation in the surface waters of the Ross sea (Antarctica). *Annali di Chimica*, 79, 543-559.
- CAPODAGLIO G., COALE K.H., BRULAND K.W., **1990**, Lead speciation in surface waters of the eastern North Pacific. *Marine Chemistry*, 29, 221-233.
- CAPODAGLIO G., SCARPONI G., TOSCANO G., BARBANTE C., CESCONE P., **1995**, Speciation of trace metals in seawater by anodic stripping voltammetry: critical analytical steps. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 351, 386-392.
- CHAKRABARTI C.L., LU Y., CHENG J., BACK M.H., SCHROEDER W.H., **1993**, Studies on metal speciation in the natural environment. *Analytica Chimica Acta*, 267, 47-64.
- CHAKRABARTI C.L., LU Y., GREGOIRE D.C., BACK M.H., SCHROEDER W.H., **1994**, Kinetic-studies of metal speciation using Chelex cation-exchange resin - Application to cadmium, copper, and lead speciation in river water and snow. *Environmental Science and Technology*, 28, 1957-1967.
- CHENG C.J., AKAGI T., HARAGUCHI H., **1987**, Simultaneous multi-element analysis for trace metals in sea water by Inductively-Coupled Plasma/Atomic Emission Spectrometry after batch preconcentration on a chelating resin. *Analytica Chimica Acta*, 198, 173-181.
- CHENG J., CHAKRABARTI C.L., BACK M.H., SCHROEDER W.H., **1994**, Chemical speciation of Cu, Zn, Pb and Cd in rain water. *Analytica Chimica Acta*, 288, 141-156.
- COLLADO-SÁNCHEZ C., PÉREZ-PEÑA J., GELADO-CABALLERO M.D., HERRERA-MELIAN J.A., HERNÁNDEZ-BRITO J.J., **1996**, Rapid determination of copper, lead and cadmium in unpurged seawater by adsorptive stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 320, 19-30.
- COLOMBO C., van den BERG C.M.G., **1997**, Simultaneous determination of several trace metals in seawater using cathodic stripping voltammetry with mixed ligands. *Analytica Chimica Acta*, 337, 29-40.

- COSOVIC B., **1985**, Aqueous surface chemistry: assessment of adsorption characteristics of organic solutes by electrochemical methods. In *Chemical Process in Lakes*; S. W., John Wiley & Sons, New York.
- CZAE M.-Z., WANG J., **1999**, Pushing the detectability of voltammetry : how low can we go? *Talanta*, 50, 921-928.
- DEAN J.R., **1998**, *Extraction methods for environmental analysis*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- DONAT J.R., BRULAND K. W., **1990**, A comparison of two voltametric techniques for determining zinc speciation in Northeast pacific ocean waters. *Marine Chemistry*, 28, 301-323.
- DONAT J.R., LAO K.A., BRULAND K. W., **1994**, Speciation of dissolved copper and nickel in south San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta*, 284, 547-571.
- ELLIS W.D., **1973**, Anodic Stripping Voltammetry, *Journal of Chemical Education*, 50, A131-&.
- FERRI T., SANGIORGIO P., **1996**, Determination of selenium speciation in river waters by adsorption on iron(III) - Chelex-100 resin and differential pulse cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 321, 185-193.
- FIGURA P., McDUFFLE B., **1979**, Use of Chelex resin for determination of labile trace metal fractions in aqueous ligand media and comparison of the method with anodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry*, 51, 120-125.
- FIGURA P., McDUFFLE B., **1980**, Determination of labilities of soluble trace metal species in aqueous environmental samples by anodic stripping voltammetry and Chelex column and batch methods. *Analytical Chemistry*, 52, 1433-1439.
- FLORENCE T.M., BATLEY G.E., **1975**, Removal of trace metals from seawater by a chelating resin. *Talanta*, 22, 201-204.
- FLORENCE T.M., BATLEY G.E., **1976**, Trace metals species in seawater. I. Removal of trace metals in seawater by a chelating resin. *Talanta*, 23, 179-186.
- FLORENCE T.M., **1977**, Trace metal species in fresh waters. *Water Research*, 11, 681-687.
- FLORENCE T.M., **1982**, The speciation of trace elements in waters. *Talanta*, 39, 345-364.
- FLORENCE T.M., **1992**, Trace-element speciation by anodic-stripping voltammetry. *Analyst*, 117, 551-553.
- FUJIMORI M., OKITANI A., **1998**, Purification and characterization of beta-N-acetylhexosaminidase from Streptomyces sp. No. 499 - Note. *Seibutsu-Kogasu Kaishi-Journal of the Society for Fermentation and Bioengineering*, 76, 200-204.
- GOLIMOWSKI J., VALENTA P., NURNBERG H.D., **1985**, Trace determination of chromium in various water types by adsorption differential pulse voltammetry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 322, 315-319.
- GROSCHNER M., APPRIOU P., **1994**, Three-column system for preconcentration and speciation determination of trace metals in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 297, 369-376.

- GUEGUEN C., BELIN C., THOMAS B.A, MONNA F., FAVARGER P.Y., DOMINIK J., **1999**, The effect of freshwater UV-irradiation prior to resin preconcentration of trace metals. *Analytica Chimica Acta*, 386, 155-159.
- GUY R.D. KEAN A.R., **1980**, Algae as a chemical speciation monitor. 1. A comparison of algal growth and computer calculated speciation. *Water Research*, 14, 891-899.
- HAYASHITA T., LEE J.H., CHEN S., BARTSCH R.A., **1991**, Selective column concentration of alkali-metal cations with a crown ether carboxylic acid resin. *Analytical Chemistry*, 63, 1844-1847.
- HAYASHITA T. L.J.H., LEE J.C., KRZYKAWSKI J., BARTSCH R.A., **1992**, Influence of medium polarity upon selectivity and efficiency of alkali metal cation sorption by polyether carboxylic acid resins. *Talanta*, 39, 857-862.
- HERING J.G., MOREL F.M.M, **1988**, Humic acid complexation of calcium and copper. *Environmental Science and Technology*, 22, 1234-1237.
- HERING J.G. MOREL F.M.M, **1990**, Kinetics of trace-metal complexation - ligand-exchange reactions. *Environmental Science and Technology*, 24, 242-252.
- HEYROVSKY J. KUTA J., **1965**, *Principles of Polarography*. Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague.
- HIROSE K., **1994**, Conditional stability constants of metal complexes of organic ligands in sea water: past and present, and a simple coordination chemistry model. *Analytica Chimica Acta*, 284, 621-634.
- HORNE R.A. MARINE R.A., **1969**, *Marine Chemistry*. Wiley Interscience, New York.
- JIMENEZ M.S., VELARTE R., CASTILLO J.R., **2002**, Performance of different preconcentration columns used in sequential injection analysis and inductively coupled plasma-mass spectrometry for multielemental determination in seawater. *Spectrochimica Acta Part B*, 57, 391-402.
- JIN L., GOGAN N.J., **2000**, Copper complexing capacities of freshwaters by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 412, 77-88.
- KALVODA R., **1994**, Review of Adsorptive Stripping Voltammetry: Assessment and Prospects. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 349, 565-570.
- KENDUZLER E., TURKER A.R., **2002**, Determination of iron, manganese and zinc in water samples by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration with solid-phase extraction onto Ambersorb 572. *Analytical Sciences*, 18, 917-921.
- KINGSTON H.M. B.I.L., BRADY T.J., RAINS T.C., **1978**, Separation of eight transitions elements from alkali and alkaline earth elements in estuarine and seawater with chelating resin and their determination by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 50, 2064-2070.
- KOGUT M.B., VOELKER B.M., **2003**, Kinetically inert Cu in coastal waters. *Environmental Science and Technology*, 37, 509-518.

- LAGE O.M., PARENTE A.M., SOARES H.M.V.M., VASCONCELOS M.T.S.D, SALEMA R., **1994**, Some effects of copper on the Dinoflagellates Amphidinium-Carterae and prorocentrum micans in batch culture. *European Journal of Physiology*, 29, 253-260.
- LIN T., NRIAGU J.O., **1999**, Thallium speciation in river waters with Chelex-100 resin. *Analytica Chimica Acta*, 395, 301-307.
- LIU Y., INGLE J.D., **1989**, Measurement and compensation for metal complex dissociation in speciation studies with an automated two-column ion-exchange system. *Analytica Chimica Acta*, 222, 279-289.
- LORENZO J.I., NIETO O., BEIRAS R., **2002**, Effect of humic acids on speciation and toxicity of copper to Paracentrotus lividus larvae in seawater. *Aquatic Toxicology*, 58, 27-41.
- LUND W., **1990**, The complexation of metal ions by humic substances in natural waters. *NATO ASI Ser. G.*, 23, 23.
- MAHMOUD M.E., SOAYED A.A., HAFEZ O.F., **2003**, Selective solid phase extraction and pre-concentration of heavy metals from seawater by physically and chemically immobilized 4-amino-3-hydroxy-2-(2-chlorobenzene)-azo-1-naphthalene sulfonic acid silica gel. *Microchimica Acta*, 143, 65-70.
- MANDAL R., SEKALY A.L.R., MURIMBOH J., HASSAN N.M., CHAKRABARTI C.L., BACK M.H., GREGOIRE D.C., SCHROEDER W.H., **1999**, Effect of the competition of copper and cobalt on the lability of Ni(II)-organic ligand complexes. Part I. In model solutions containing Ni(II) and a well-characterized fulvic acid. *Analytica Chimica Acta*, 395, 309-322.
- MANDAL R., SALAM M.S.A., CHAKRABARTI C.L., BACK M.H., **2003**, An electrochemical investigation of complexation of Pb(II) by a well-characterized fulvic acid in model systems - Effect of competition with major cations and trace metals. *Electroanalysis*, 15, 903-906.
- MANTOURA R.F.C., **1981**, Organo-metallic interactions in natural waters. In *Marine organic chemistry*; Duursma E.K., e Dawson R., Elsevier, Amsterdam.
- MARTELL A.E., SMITH R.M., **1973-1989**, *Critical Stability Constants*. Plenum, New-York.
- MILLER J.C., MILLER J.N., **1993**, *Statistics for Analytical Chemistry*. Ellis Horwood, Chichester.
- MILLER L.A., BRULAND K.W., **1994**, Determination of copper speciation in marine waters by competitive ligand equilibration liquid-liquid extraction - an evaluation of the technique. *Analytica Chimica Acta*, 284, 573-586.
- MLAKAR M., BRANICA M., **1989**, Stripping voltammetric determination of trace levels of uranium by synergic adsorption. *Analytica Chimica Acta*, 221, 279-287.
- MONTERROSO S.C.C., CARAPUÇA H.M., SIMÃO J.E.J, DUARTE A.C., **2004**, Optimization of mercury film deposition on glassy carbon electrodes: evaluation of the combined effects of pH, thiocyanate ion and deposition potencial. *Analytica Chimica Acta*, 503, 203-212.
- MOREL F.M.M., **1983**, *Principles of Aquatic Chemistry*. Wiley-Intersciences, New-York.
- MOTA A.M., CORREIA DOS SANTOS M.M., **1995**, Trace metal speciation of labile chemical species in natural waters: electrochemical methods. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*, Turner. D.R. e Tessier A., John Wiley & Sons Ltd, Chichester.

- MULLER F.L.L., KESTER D.R., **1990**, Kinetic approach to trace metal complexation in sea-water - application to zinc and cadmium. *Environmental Science and Technology*, 24, 234-242.
- MULLER F.L.L., GULIN S.B., KALVOY A., **2001**, Chemical speciation of copper and zinc in surface waters of the western Black Sea. *Marine Chemistry*, 76, 233-251.
- MUSTAFA S.A. S.S., ELCI L., DOGAN M., **2002**, Determination of trace metal ions in seawater by atomic absorption spectrometry after separation/preconcentration with calmagite on amberlite XAD-1180. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 82, 225-231.
- MYLON S.E., TWINING B.S., FISHER N.S., BENOIT G., **2003**, Relating the speciation of Cd, Cu, and Pb in two Connecticut rivers with their uptake in algae *Environmental Science and Technology*, 37, 1261-1267.
- NARIN I., SOYLAK M., **2003**, The uses of 1-(2-pyridylazo) 2-naphtol (PAN) impregnated Ambersorb 563 resin on the solid-phase extraction of traces heavy metal ions and their determinations by atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 60, 215-221.
- OSTERYOUNG J.G., OSTERYOUNG R.A., **1985**, Square Wave Voltammetry. *Analytical Chemistry*, 57, A101-A110.
- OSTERYOUNG R.A., CHRISTIE J.H., **1973**, Pulsed Anodic Stripping Voltammetry. *Abstract Paper of American Chemistry*, 8-14
- PAI S.U., **1988**, Pre-concentration efficiency of Chelex-100 resin for heavy metals in seawater. Part 1. Effects of pH and salts on the distribution ratios of heavy metals. *Analytica Chimica Acta*, 211, 257-270.
- PESAVENTO M., BIESUZ R., GALLORINIAND M., PROFUMO A., **1993**, Sorption mechanism of trace amounts of divalent metal-ions on a chelating resin containing iminodiacetate groups. *Analytical Chemistry*, 65, 2522-2527.
- PESAVENTO M., BIESUZ R., CORTINA J.L., **1994**, Sorption of metal ions on a weak acid cation-exchange resin containing carboxylic groups. *Analytica Chimica Acta*, 298, 225-232.
- PESAVENTO M., BIESUZ R., **1995**, Simultaneous determination of total and free metal ion concentration in solution by sorption on iminodiacetate resin. *Analytical Chemistry*, 67, 3558-3563.
- PESAVENTO M., BIESUZ R., BAFFI F., GNECCO C., **1999**, Determination of metal ions concentration and speciation in seawater by titration with an iminodiacetic resin. *Analytica Chimica Acta*, 401, 265-276.
- PESAVENTO M., ALBERTI G., PROFUMO A., **2000**, Determination of the metal complexing capacity of aqueous solutions containing ligands by titrations in the presence of complexing resins. *Analytica Chimica Acta*, 405, 309-319.
- PESAVENTO M. B.R., GNECCO C., MAGI E., **2001**, Investigation of the metal species in seawater by sorption of the metal ion on complexing resins with different sorbing properties *Analytica Chimica Acta*, 449, 23-33.
- PETERSON H.G., HEALEY F.P., WAGEMANN R., **1984**, Metal toxicity to algae: a highly pH dependent phenomenon. *Canadian Journal of Fishing and Aquatic Sciences*, 41, 974-979.

- PINHEIRO J.P., MOTA A.M., GONÇALVES M.L.S., **1994**, Complexation study of humic acids with cadmium(II) and lead(II). *Analytica Chimica Acta*, 284, 525-537.
- PLAVSIC M., COSOVIC B., **1991**, Study of cadmium interaction with humic acid at the mercury/water interface. *Marine Chemistry*, 36, 39-49.
- PLAVSIC M., **2003**, Electroanalytical techniques applied for studying the interaction of organic matter and particles with metal ions in natural waters. *Analytical Letters*, 36, 145-160.
- PRABHU S.V., BALDWIN R.P., **1987**, Chemical preconcentration and determination of copper at a chemically modified carbon-paste electrode containing 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline. *Analytical Chemistry*, 59, 1074-1078.
- PYRZYŃSKA K., JOŃCA Z., **2000**, Multielement preconcentration and removal of trace metals by solid-phase extraction. *Analytical Letters*, 33, 1441-1450.
- RAITT J.G., **1970**, *Ion Exchange - a Special Study*. Penguin Books Ltd, Middlesex.
- ROITZ J.S., BRULAND K.W., **1997**, Determination of dissolved manganese(II) in coastal and estuarine waters by differential pulse cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 344, 175-180.
- SALOMONS W., FORSTNER U., **1984**, *Metals in the Hydrocycle*. Springer Verlag, Berlin.
- SANDERS B.M., JENKINS K.D., **1984**, Relationship between free cupric ion concentrations in sea water and copper metabolism and growth in crab larvae. *Biological Bulletin*, 167, 704-712.
- SANTOS A., ALONSO E., CALLEJON M., JIMENEZ J.C., **2002**, Distribution of Zn, Cd, Pb and Cu metals in groundwater of the Guadiana River Basin. *Water, Air and Soil Pollution*, 134, 275-286.
- SARACOGU S., ELCI L., **2002**, Column solid-phase extraction with Chromosorb-102 resin and determination of trace elements in water and sediment samples by flame atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 452, 77-83.
- SAWAMOTO H., **1999**, Adsorptive stripping voltammetry of metal ions (Review). *Bunseki Kagaku*, 48, 137-150.
- SAWATARI H. T.T., SAIZUKA T., KIMATA C., ITOH A., HARAGUCHI H., **1995**, Multi-element determination of rare earth elements in coastal seawater by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry after preconcentration using chelating resin. *Bulletin of Chemical Society of Japan*, 68, 3065-3070.
- SCARANO G., BRAMANTI E., ZIRINO A., **1992**, Determination of copper complexation in seawater by a ligand competition technique with voltammetric measurement of the labile metal fraction. *Analytica Chimica Acta*, 264, 153-162.
- STUMM W., MORGAN J., **1981**, *Aquatic Chemistry*. John Wiley & Sons, New York.
- SUNDA W.G., GUILLARD R.R.L., **1976**, The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. *Journal of Marine Research*, 34, 511-529.
- SUNDA W.G., GILLESPIE, P.A., **1979**, The response of a marine bacterium to cupric ion and its use to estimate cupric ion activity in seawater. *Journal of Marine Research*, 37, 761-777.

- SUNDA W.G., FERGUSON R.L., **1983**, Sensitivity of natural bacterial communities to additions of copper and to cupric ion activity: a bioassay of Cu complexation in seawater. In *Trace Metals in Seawater*; Wong C.S., Boyle E., Bruland K., Burton J.D., Goldberg E.D., Plenum Press, New York.
- TOWN R.M., FILELLA M., **2002**, Crucial role of the detection window in metal ion speciation analysis in aquatic systems: the interplay of thermodynamic and kinetic factors as exemplified by nickel and cobalt. *Analytica Chimica Acta*, 466, 285-293.
- TUBBING D.M.J., ADMIRAAL W., CLEVEN R.F.M.J., IQBAL M., Van de MEENT D., VERWEIJ W., **1994**, The contribution of complexed copper to the metabolic inhibition of algae and bacteria in synthetic media and river water. *Water Research*, 28, 37-44.
- TURNER D.R., **1995**, Problems in trace metal speciation modeling. In *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*; Tessier A., Turner D.R., John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- TURNER D.R., WHITFIELD M., **1981**, the equilibrium speciation of dissolved components in freshwaters at 25°C and 1 atm. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 45, 855-881.
- TUSCHALL J.R., BREZONIK P.L., **1981**, Evaluation of the copper Anodic-Stripping Voltammetry complexometric titration for complexing capacities and conditional stability-constants. *Analytical Chemistry*, 53, 1986-1989.
- UZUN A., SOYLAK M., ELCI L., **2001**, Preconcentration and separation with Amberlite XAD-4 resin; determination of Cu, Fe, Pb, Ni, Cd and Bi at trace levels in waste water samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 54, 197-202.
- van den BERG C.M.G., KRAMER J.R., **1979**, Determination of complexing capacities of ligands in natural-waters and conditional stability-constants of the copper-complexes by means of manganese-dioxide. *Analytica Chimica Acta*, 106, 113-120.
- van den BERG C.M.G., **1982**, Determination of copper complexation with natural organic ligands in seawater by equilibration with MnO₂ II Experimental Procedures and Application to surface Seawater. *Marine Chemistry*, 11, 323-342.
- van den BERG C.M.G., **1986**, Determination of copper, cadmium and lead in seawater by cathodic stripping voltammetry of complexes with 8-hydroxyquinoline. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 215, 111-121.
- van den BERG C.M.G., REBELLO A.L., **1986**, Organic-copper interactions in Guanabara Bay, Brazil. An electrochemical study of copper complexation by dissolved organic material in a tropical bay. *Science of The Total Environment*, 58, 37-45.
- van den BERG C.M.G., KHAN S.H., **1990**, Determination of selenium in seawater by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 231, 221-229.
- van den BERG C.M.G., **1991**, Potentials and potentialities of cathodic stripping voltammetry of trace elements in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 250, 265-276.
- van den BERG C.M.G., DONAT J.R., **1992**, Determination and data evaluation of copper complexation by organic-ligands in sea-water using cathodic stripping voltammetry at varying detection windows. *Analytica Chimica Acta*, 257, 281-291.

- VASCONCELOS M.T.S.D., AZENHA M.A.O., **1996**, Additional evidence of the operational character of the lability of complexes of copper(II) with simple organic ligands. *Analytica Chimica Acta*, 333, 97-105.
- VASCONCELOS M.T.S.D., LEAL M.F.C., SOARES H.M.V.M., **1996**, Influence of the ration copper(II) to ligand concentrations and the nature of entering and leaving ligands on the lability of copper(II) complexes. *Analytica Chimica Acta*, 330, 273-281.
- VASCONCELOS M.T.S.D., LEAL M.F.C., **1997**, Speciation of Cu, Pb, Cd and Hg in waters of the Oporto coast in Portugal, using pre-concentration in a Chelamine resin column. *Analytica Chimica Acta*, 353, 189-198.
- VELASQUEZ I.B., JACINTO G.S., VALERA F.S., **2002**, The speciation of dissolved copper, cadmium and zinc in Manila Bay, Philippines. *Marine Pollution Bulletin*, 45, 210-217.
- VERWEIJ W., **1999**, CHEmical Equilibria in AQUatic Systems (CHEAQS)., software informatico
- VIANA M.M.O., da SILVA M.P., AGRAZ R., PROCOPIO J.R., SEVILLA M.T., HERNANDEZ L., **1999**, Comparison of two kinetic approaches for copper speciation using ion-exchange columns and ion-exchange modified carbon paste electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 382, 179-188.
- WANG J., **1985**, *Stripping Analysis - Principles, Instrumentation and Application*. VCH Publishers, New York.
- WANG J., ZADEH H., **1987**, Ultrasensitive and selective measurements of Tin by adsorptive stripping voltammetry of the Tin Tropolone complex. *Talanta*, 34, 909-914.
- WANG J., **1994**, *Analytical Electrochemistry*. VCH Publishers Inc, New York.
- WANG S.T., XU H.D., LI J.H., **2002**, Environmental Electroanalytical Chemistry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 30, 1005-1011.
- WANG Z.J., HUANG S.B., LIU Q., **2002a**, Use of anodic stripping voltammetry in predicting toxicity of copper in river water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 1788-1795.
- XUE H.B., STUMM W., SIGG L., **1988**, The binding of heavy metals to algal surfaces. *Water Research*, 22, 917-926.
- YABUTANI T., JI S., MOURI F., SAWATARI H., ITOH A., CHIBA K., HARAGUCHI H., **1999**, Multi-element determination of trace metals in coastal seawater by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with aid of chelating resin preconcentration. *Bulletin of Chemical Society of Japan*, 72, 2253-2260.
- ZIRINO A., **1981**, Voltammetry of natural sea water. In *Marine Electrochemistry*; Whitfield M., Jagner D., John Wiley & Sons, New York.

IV. Conclusão Geral

O objectivo principal deste trabalho era desenvolver e otimizar métodos de fraccionamento de metais vestigiais em águas e sedimentos estuarinos.

Em primeiro lugar, foram determinadas as condições experimentais óptimas para a extracção pelo EDTA de metais em sedimento e determinou-se o melhor protocolo para a realização do estudo da cinética de extracção de metais no sedimento. As curvas de extracção obtidas com o protocolo otimizado foram depois ajustadas com dois modelos cinéticos e duas equações cinéticas e mostrou-se assim que o modelo de duas reacções de primeira ordem é o mais eficiente para descrever a extracção pelo EDTA de metais vestigiais nos sedimentos estudados. Este modelo permitiu mostrar que as quantidades de cobre, de cádmio e de chumbo presentes nos sedimentos estudados podem ser divididas em três fracções, caracterizadas pela velocidade de extracção pelo EDTA de cada metal. Assim a quantidade total de cada metal divide-se entre a fracção de metal rapidamente extraída, a fracção de metal lentamente extraída e a fracção de metal não extraída. O método de fraccionamento otimizado em conjunto com o modelo de duas reacções de primeira ordem permitiu mostrar que a composição do sedimento estudado tem influência sobre a extracção pelo EDTA dos metais vestigiais estudados e consequentemente sobre o fraccionamento dos metais determinado com base na cinética de extracção dos metais pelo EDTA.

A voltametria de redissolução anódica e a voltametria de redissolução catódica com acumulação adsorptiva foram as duas técnicas voltamétricas optimizadas, no presente trabalho, com o objectivo de determinar a fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo em águas estuarinas, assim como a sua concentração total, após destruição da matéria orgânica presente na amostra. Devido aos baixos níveis de concentração em cádmio e chumbo encontrados nas amostras estudadas, só foi possível determinar o fraccionamento do cobre com estas técnicas voltamétricas. Contudo, estas técnicas apresentam a grande vantagem de incluírem uma etapa de pré-concentração e de permitirem a determinação simultânea da fracção lábil de cobre, cádmio e chumbo.

A extracção em fase sólida com as resinas Chelex 100 e Amberlite CG-50 permitiu dividir o cobre, o cádmio e o chumbo presente nas amostras de água estudadas em três fracções: a fracção lábil de metal determinada com a Amberlite CG-50, a fracção lábil de metal determinada com a Chelex 100 e a fracção de metal não extraível por estas resinas. Esta técnica permitiu, também, mostrar que o fraccionamento dos metais depende da natureza do metal considerado, dos ligandos presentes em solução e também da resina utilizada. Provou-

se, ainda, que a fracção lábil de um metal determinada por SPE depende da presença de outros metais em solução e que a natureza da resina utilizada tem influência sobre a extensão da dissociação dos complexos metálicos e não só sobre a capacidade da resina a provocar ou não a dissociação dos complexos metálicos.

A extracção em fase sólida foi, ainda, utilizada para o estudo da labilidade dos complexos metálicos com húmicos. Desenvolveu-se para esse efeito, um método que permite determinar a fracção de metal livre e inorgânico numa solução em equilíbrio com a resina Dowex 50W-X8. Apesar de não terem sido utilizados ácidos húmicos naturais e das condições experimentais usadas não reflectirem exactamente as condições naturais, o trabalho realizado permitiu validar o método e testá-lo com matéria húmica.

Uma das perspectivas do presente trabalho será a aplicação deste método a amostras de águas naturais de modo a determinar a labilidade de complexos metálicos com matéria húmica natural. Em relação ao fraccionamento de metais vestigiais em sedimentos, seria interessante caracterizar cada uma das fracções obtidas com o método desenvolvido no presente trabalho. Além disso, seria, ainda de grande interesse poder relacionar a biodisponibilidade dos metais com cada uma das fracções obtidas.

No caso dos métodos voltamétricos, um dos objectivos de futuros trabalhos poderá ser o de tentar alcançar níveis de determinação ainda mais baixos do que os que são actualmente obtidos ou a simplificação do método para medições *in-situ*. No caso da extracção em fase sólida, a utilização de novas resinas mais selectivas poderá permitir o fraccionamento do metal presente em águas naturais com mais eficiência.

V. ANEXOS

V.1. Anexo I - Problemas de interferências e contaminações nos métodos voltamétricos

Os métodos voltamétricos apresentam a vantagem de ser muito sensíveis e permitir determinar concentrações de metais muito baixas. No entanto, a sua utilização pode, em certos casos, ser posta em causa devido aos problemas de interferências e contaminações. Entende-se por interferências tudo o que, de alguma forma, altere o sinal analítico que se pretende medir. Na voltametria, podem-se considerar dois tipos distintos de interferências; um originado pela formação de compostos inter-metálicos e outro proveniente de matéria orgânica presente na solução-amostra.

Neste trabalho, os principais problemas encontrados foram devido a presença de matéria orgânica que pode originar dois tipos de problemas. Primeiro, a matéria orgânica, ao ser adsorvida na superfície do eléctrodo, constitui uma barreira à difusão da espécie a analisar e, deste modo, o processo de deposição pode ser perturbado. Consequentemente, poderá ocorrer uma redução da intensidade de corrente da espécie ou o deslocamento da posição do pico (*Buffle et al., 1997; Campos e van den Berg, 1994*). De maneira a evitar este tipo de interferência, é necessário reduzir ao mínimo o tempo de contacto entre a amostra e os eléctrodos, nomeadamente usando tempos de acumulação baixos.

A complexação de iões metálicos por ligandos orgânicos constitui outro tipo de interferência provocada pela presença de compostos orgânicos em numerosas matrizes. Este segundo caso assimila-se mais a um problema de contaminação da amostra que poderá ser resolvido tomando os devidos cuidados de lavagem do material utilizado nas medições. Na Figura V.1.1 estão representados os voltamogramas de uma solução de água ultrapura e de uma solução de água desionizada na presença e na ausência de matéria orgânica obtidas por DPASV com as seguintes condições experimentais: $E_{ac} = E_i = -1$ V; $t_{ac} = 600$ s; $E_f = 0,1$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento: 0,01V/s.

Na presença de matéria orgânica, em ambas as soluções, aparece uma bossa entre $E = -0,6$ V e $E = -0,2$ V, perto do potencial do ponto de carga nula do eléctrodo de mercúrio. Tendo em consideração o facto de não existir em solução qualquer compostos electro-activo, esta bossa poderá ser originada pela presença em solução de compostos tensioactivos de carga nula que adsorvem no eléctrodo de mercúrio. Por outro lado, outro problema encontrado ao longo deste trabalho foi a presença de grandes quantidades de ferro na água utilizada para a

preparação das soluções. Os colóides de ferro são compostos cujo tamanho permite que se considere as suas cargas como nulas. Logo, as bossas observadas na Figura V.1.1 poderão, também, dever-se a presença de colóides de ferro.

De uma forma geral, este tipo de interferência caracteriza-se pelo não crescimento dos picos com adições sucessivas de metais ou mesmo a ausência de sinais.

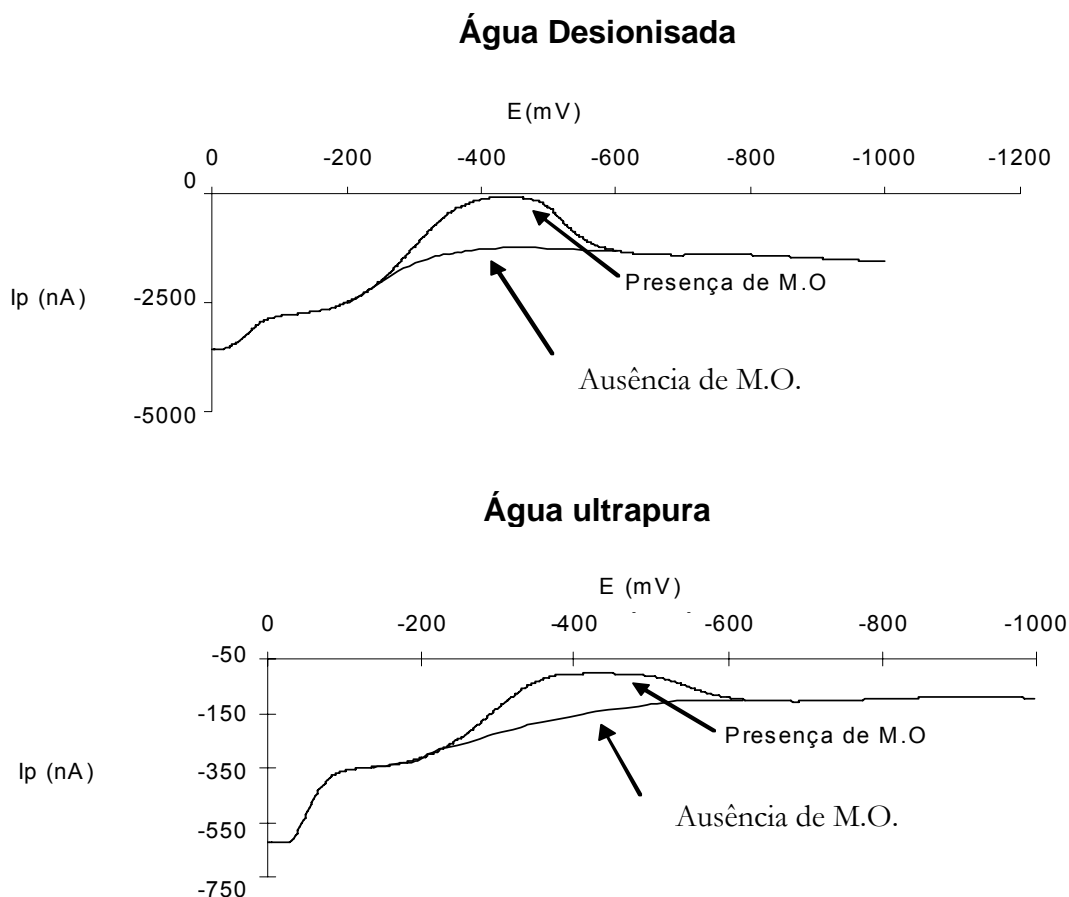


Figura V.1.1: Voltamogramas de uma solução de água ultrapura e de uma solução de água desionizada na presença e na ausência de matéria orgânica obtidas por DPASV com as seguintes condições experimentais: $E_{ac} = E_i = -1$ V; $t_{ac} = 600$ s; $E_f = 0,1$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento: $0,01$ V/s.

BUFFLE J., WIKINSON K. J., TERCIER M. L., PARTHASARATHY N., **1997**, In situ monitoring and speciation of trace metals in natural waters. *Societ  Chimica Italiana*, 87, 67-82.

CAMPOS M.L.A.M., van den BERG C.M.G., **1994**, Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldoxime. *Analytica Chimica Acta*, 284, 481-496.

V.2. Anexo II – Constantes de estabilidade dos complexos formados com a oxina (Martell e Smith, 1979)

Os valores apresentados são Log K determinado à 25°C a força iónica I=0.

Complexo \ Catião					
	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	4,74	3,27	12,56	7,78	9,02
ML ₂	-	-	23,0	-	-

V.3. Anexo III – Constantes de estabilidade dos complexos formados com o EDTA, o NTA e o ácido cítrico (Martell e Smith, 1979)

Os valores apresentados são Log K determinado à 25°C a força iônica I=0.

- EDTA

Catão complexo	Mg ²⁺	Na ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	10,58	2,71	20,49	18,10	19,71
MHL	15,01	11,168	24,02	21,43	22,536
MH ₂ L	-	-	26,23	23,23	24,439
MH ₃ L	-	-	-	-	25,639

- NTA

Catão complexo	Mg ²⁺	Na ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	6,781	1,841	14,28	11,04	12,761
MHL	-	-	16,09	-	15,33
ML ₂	-	-	18,04	15,11	13,44

- Ácido cítrico

Catão complexo	Mg ²⁺	Na ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	4,84	1,289	7,18	5,36	4,34
ML ₂	-	-	-	5,18	10,42
ML ₃	-	-	-	-	17,39
MHL	9,1	-	10,605	9,365	10,74
MH ₂ L	12,35	-	13,37	12,48	15,50
M ₂ L	-	-	9,81	-	-
M ₂ L ₂	-	-	15,43	-	-

V.4. Anexo IV – Optimização do processo de destruição da matéria orgânica nas águas por acidificação e irradiação por ultra-violeta

Na maioria dos estudos, as amostras da água são acidificadas e irradiadas por Ultra-violeta antes de se realizar a determinação da concentração total de metais (*Campos e van den Berg, 1994; Donat et al., 1994; Gueguen et al., 1999; Jin e Gogan, 2000*). Segundo a quantidade de matéria orgânica existente na amostra, será necessário um tempo de irradiação mais ou menos longo para garantir que toda a matéria orgânica seja destruída e que todos os metais se encontrem, assim, sob a forma livre M^{n+} (aq). De modo a determinar o tempo de irradiação necessário, irradiou-se uma amostra de água durante vários tempos e determinou-se a intensidade do pico de cobre obtido por AdCSV para cada tempo de irradiação. Como se pode observar na Figura V.4.1, para tempos de irradiação superiores à 10 horas a intensidade do pico do cobre deixa de aumentar e mantém-se constante. É de salientar que a intensidade do pico de cobre determinada para tempos superiores à 10 horas é ligeiramente inferior a intensidade determinada com 10 horas de irradiação. Esta diminuição poderá ser devida a adsorção de metais nas paredes dos tubos de quartzo ou, eventualmente, a perdas por evaporação provocadas pelo aquecimento da solução ao longo do tempo.

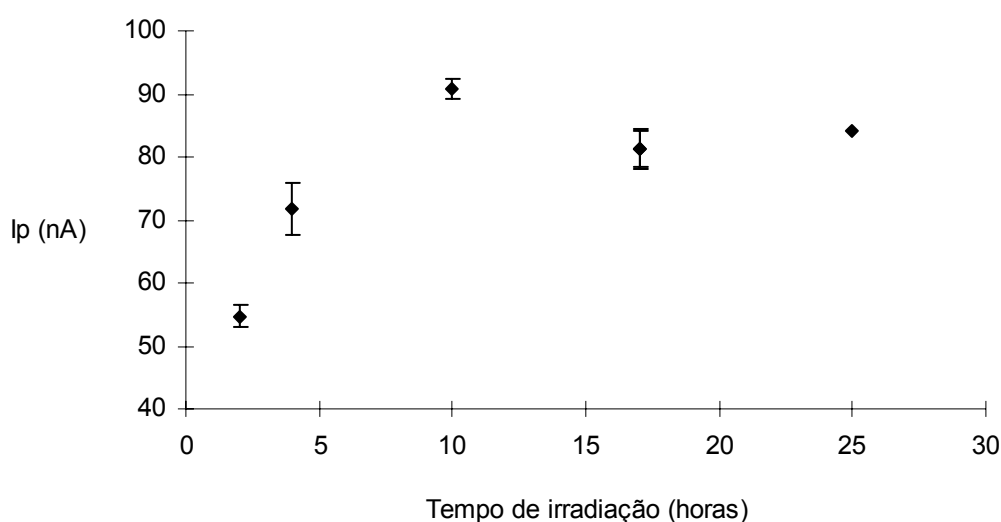


Figura V.4.1: Variação da intensidade do pico do cobre com o tempo de irradiação (Média de três réplicas e desvio padrão respectivo).

Pode, então, concluir-se que as amostras de água devem ser irradiadas pelo menos 10 horas para garantir que toda a matéria orgânica seja destruída e que todo o metal presente na amostra esteja na forma livre M^{n+} (aq) de modo. Embora as amostras sejam provenientes do mesmo local, a quantidade de matéria orgânica presente pode variar de uma amostra para outra. Por esta razão decidiu-se usar um tempo de irradiação de 25 horas.

CAMPOS M.L.A.M., van den BERG C.M.G., **1994**, Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldoxime. *Analytica Chimica Acta*, 284, 481-496.

DONAT J.R., LAO K.A., BRULAND K. W., **1994**, Speciation of dissolved copper and nickel in south San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta*, 284, 547-571.

GUEGUEN C., BELIN C., THOMAS B.A, MONNA F., FAVARGER P.Y., DOMINIK J., **1999**, The effect of freshwater UV-irradiation prior to resin preconcentration of trace metals. *Analytica Chimica Acta*, 386, 155-159.

JIN L., GOGAN N.J., **2000**, Copper complexing capacities of freshwaters by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 412, 77-88.

V.5. Anexo V – Localização da zona de amostragem dos sedimentos estudados

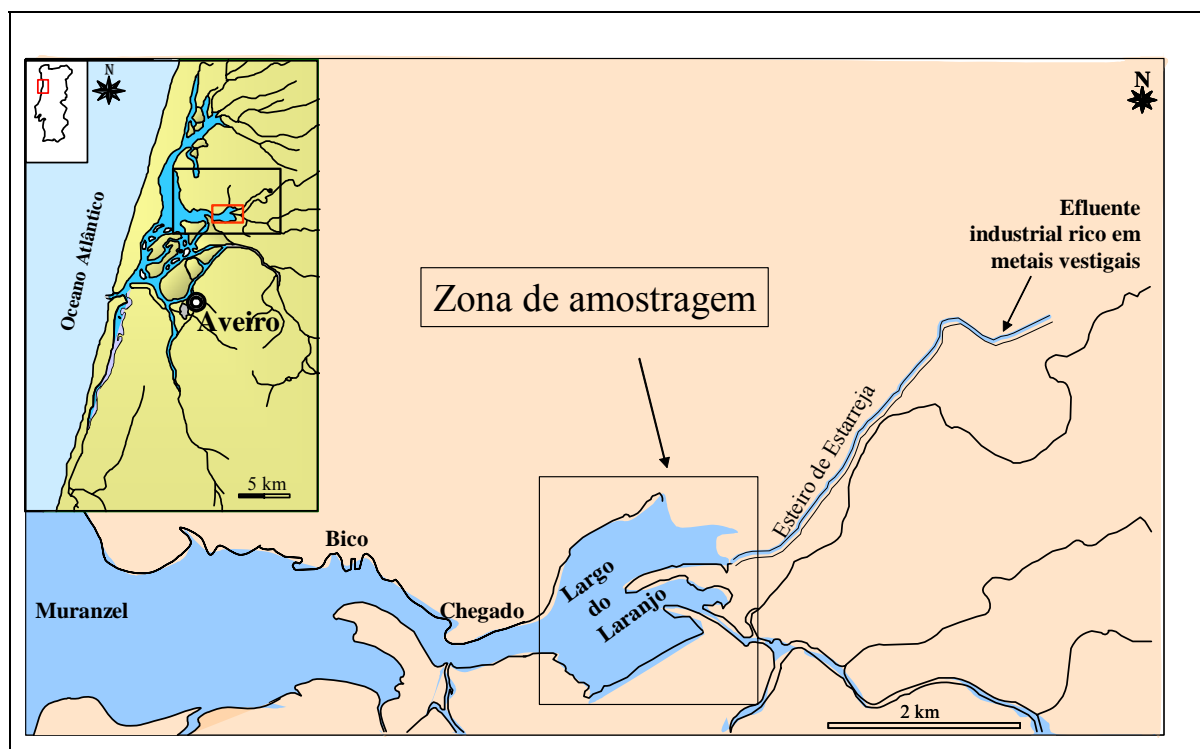


Figura V.5.1: Mapa de localização da zona de amostragem dos sedimentos estudados.

I.1. Anexo I - Problemas de interferências e contaminações nos métodos voltamétricos

Os métodos voltamétricos apresentam a vantagem de ser muito sensíveis e permitir determinar concentrações de metais muito baixas. No entanto, a sua utilização pode, em certos casos, ser posta em causa devido aos problemas de interferências e contaminações. Entende-se por interferências tudo o que, de alguma forma, altere o sinal analítico que se pretende medir. Na voltametria, podem-se considerar dois tipos distintos de interferências; um originado pela formação de compostos inter-metálicos e outro proveniente de matéria orgânica presente na solução-amostra.

Neste trabalho, os principais problemas encontrados foram devido a presença de matéria orgânica que pode originar dois tipos de problemas. Primeiro, a matéria orgânica, ao ser adsorvida na superfície do eléctrodo, constitui uma barreira à difusão da espécie a analisar e, deste modo, o processo de deposição pode ser perturbado. Consequentemente, poderá ocorrer uma redução da intensidade de corrente da espécie ou o deslocamento da posição do pico (*Buffle et al., 1997; Campos e van den Berg, 1994*). De maneira a evitar este tipo de interferência, é necessário reduzir ao mínimo o tempo de contacto entre a amostra e os eléctrodos, nomeadamente usando tempos de acumulação baixos.

A complexação de iões metálicos por ligandos orgânicos constitui outro tipo de interferência provocada pela presença de compostos orgânicos em numerosas matrizes. Este segundo caso assimila-se mais a um problema de contaminação da amostra que poderá ser resolvido tomando os devidos cuidados de lavagem do material utilizado nas medições. Na Figura V.1.1 estão representados os voltamogramas de uma solução de água ultrapura e de uma solução de água desionizada na presença e na ausência de matéria orgânica obtidas por DPASV com as seguintes condições experimentais: $E_{ac} = E_i = -1 \text{ V}$; $t_{ac} = 600 \text{ s}$; $E_f = 0,1 \text{ V}$; $t_{eq} = 20 \text{ s}$; velocidade de varrimento: $0,01 \text{ V/s}$.

Na presença de matéria orgânica, em ambas as soluções, aparece uma bossa entre $E = -0,6 \text{ V}$ e $E = -0,2 \text{ V}$, perto do potencial do ponto de carga nula do eléctrodo de mercúrio. Tendo em consideração o facto de não existir em solução qualquer compostos electro-activo, esta bossa poderá ser originada pela presença em solução de compostos tensioactivos de carga nula que adsorvem no eléctrodo de mercúrio. Por outro lado, outro problema encontrado ao longo deste trabalho foi a presença de grandes quantidades de ferro na água utilizada para a preparação das soluções. Os colóides de ferro são compostos cujo tamanho permite

que se considere as suas cargas como nulas. Logo, as bossas observadas na Figura V.1.1 poderão, também, dever-se a presença de colóides de ferro.

De uma forma geral, este tipo de interferência caracteriza-se pelo não crescimento dos picos com adições sucessivas de metais ou mesmo a ausência de sinais.

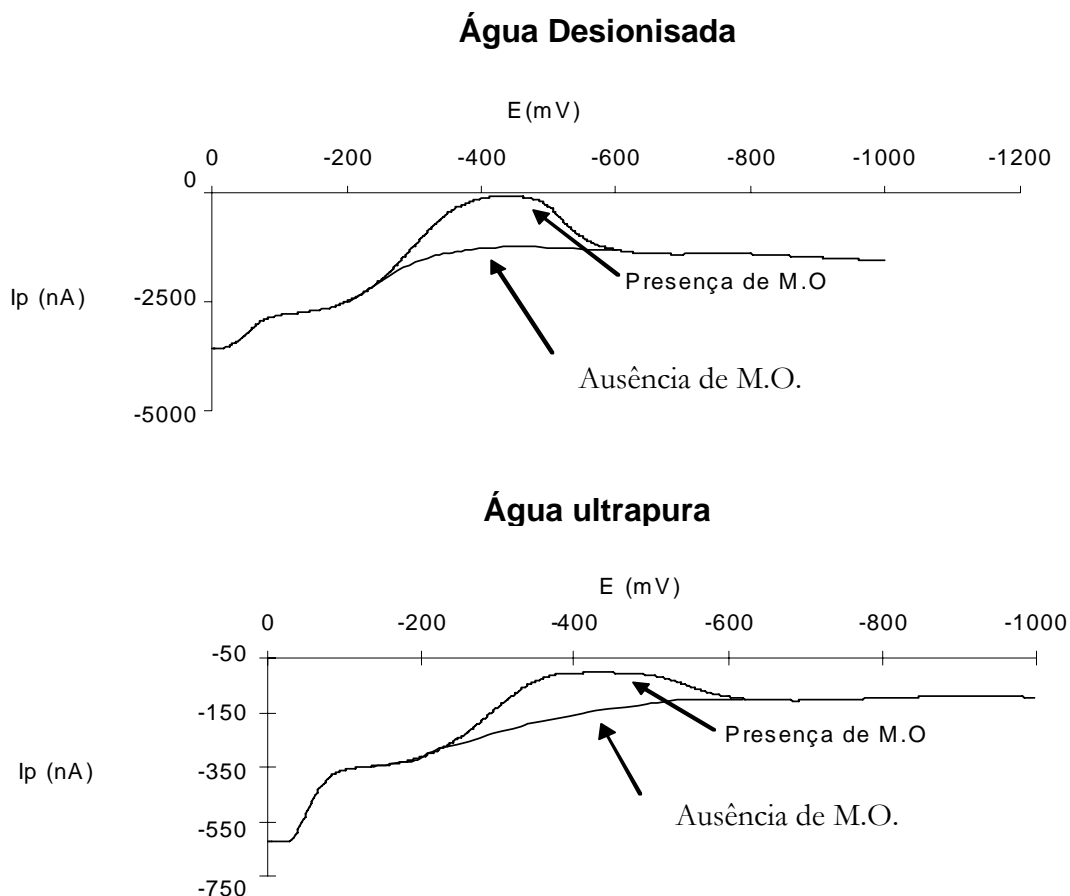


Figura V.1.1: Voltamogramas de uma solução de água ultrapura e de uma solução de água desionizada na presença e na ausência de matéria orgânica obtidas por DPASV com as seguintes condições experimentais: $E_{ac} = E_i = -1$ V; $t_{ac} = 600$ s; $E_f = 0,1$ V; $t_{eq} = 20$ s; velocidade de varrimento: $0,01$ V/s.

BUFFLE J., WIKINSON K. J., TERCIER M. L., PARTHASARATHY N., **1997**, In situ monitoring and speciation of trace metals in natural waters. *Societ  Chimica Italiana*, 87, 67-82.

CAMPOS M.L.A.M., van den BERG C.M.G., **1994**, Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldoxime. *Analytica Chimica Acta*, 284, 481-496.

I.2. Anexo II – Constantes de estabilidade dos complexos formados com a oxina (Martell e Smith, 1979)

Os valores apresentados são Log K determinado à 25°C a força iônica I=0.

Complexo \ Catião					
	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	4,74	3,27	12,56	7,78	9,02
ML ₂	-	-	23,0	-	-

I.3. Anexo III – Constantes de estabilidade dos complexos formados com o EDTA, o NTA e o ácido cítrico (Martell e Smith, 1979)

Os valores apresentados são Log K determinado à 25°C a força iônica I=0.

- EDTA

<div> <div>Catão</div> <div>complexo</div> </div>	Mg ²⁺	Na ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	10,58	2,71	20,49	18,10	19,71
MHL	15,01	11,168	24,02	21,43	22,536
MH ₂ L	-	-	26,23	23,23	24,439
MH ₃ L	-	-	-	-	25,639

- NTA

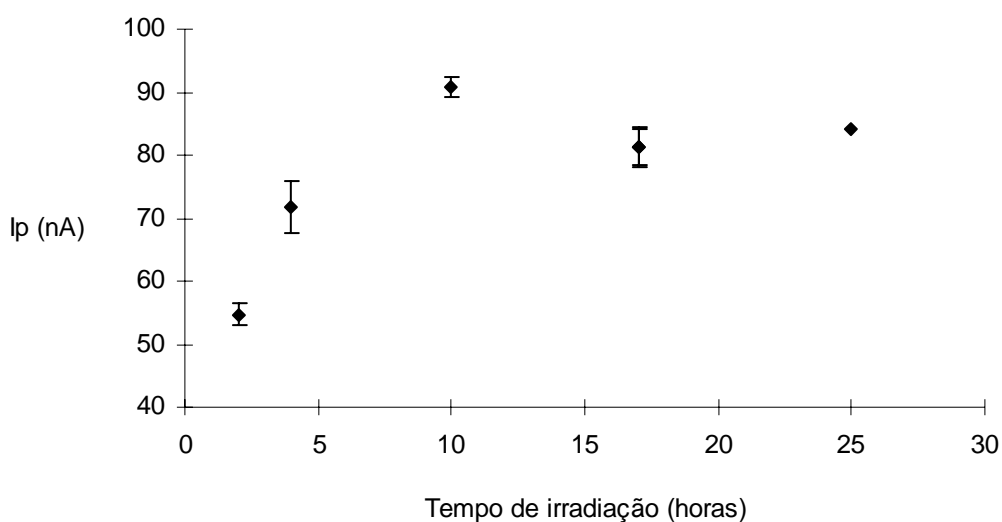
<div> <div>Catão</div> <div>complexo</div> </div>	Mg ²⁺	Na ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	6,781	1,841	14,28	11,04	12,761
MHL	-	-	16,09	-	15,33
ML ₂	-	-	18,04	15,11	13,44

- Ácido cítrico

<div>Catão</div> <div>complexo</div>	Mg ²⁺	Na ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
ML	4,84	1,289	7,18	5,36	4,34
ML ₂	-	-	-	5,18	10,42
ML ₃	-	-	-	-	17,39
MHL	9,1	-	10,605	9,365	10,74
MH ₂ L	12,35	-	13,37	12,48	15,50
M ₂ L	-	-	9,81	-	-
M ₂ L ₂	-	-	15,43	-	-

I.4. Anexo IV – Otimização do processo de destruição da matéria orgânica nas águas por acidificação e irradiação por ultra-violeta

Na maioria dos estudos, as amostras da água são acidificadas e irradiadas por Ultra-violeta antes de se realizar a determinação da concentração total de metais (*Campos e van den Berg, 1994; Donat et al., 1994; Gueguen et al., 1999; Jin e Gogan, 2000*). Segundo a quantidade de matéria orgânica existente na amostra, será necessário um tempo de irradiação mais ou menos longo para garantir que toda a matéria orgânica seja destruída e que todos os metais se encontrem, assim, sob a forma livre M^{n+} (aq). De modo a determinar o tempo de irradiação necessário, irradiou-se uma amostra de água durante vários tempos e determinou-se a intensidade do pico de cobre obtido por AdCSV para cada tempo de irradiação. Como se pode observar na Figura V.4.1, para tempos de irradiação superiores à 10 horas a intensidade do pico do cobre deixa de aumentar e mantém-se constante. É de salientar que a intensidade do pico de cobre determinada para tempos superiores à 10 horas é ligeiramente inferior a intensidade determinada com 10 horas de irradiação. Esta diminuição poderá ser devida a adsorção de metais nas paredes dos tubos de quartzo ou, eventualmente, a perdas por evaporação provocadas pelo aquecimento da solução ao longo do tempo.



II. Figura V.4.1: Variação da intensidade do pico do cobre com o tempo de irradiação (Média de três réplicas e desvio padrão respectivo).

Pode, então, concluir-se que as amostras de água devem ser irradiadas pelo menos 10 horas para garantir que toda a matéria orgânica seja destruída e que todo o metal presente na amostra esteja na forma livre M^{n+} (aq) de modo. Embora as amostras sejam provenientes do mesmo local, a quantidade de matéria orgânica presente pode variar de uma amostra para outra. Por esta razão decidiu-se usar um tempo de irradiação de 25 horas.

- CAMPOS M.L.A.M., van den BERG C.M.G., **1994**, Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldoxime. *Analytica Chimica Acta*, 284, 481-496.
- DONAT J.R., LAO K.A., BRULAND K. W., **1994**, Speciation of dissolved copper and nickel in south San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta*, 284, 547-571.
- GUEGUEN C., BELIN C., THOMAS B.A, MONNA F., FAVARGER P.Y., DOMINIK J., **1999**, The effect of freshwater UV-irradiation prior to resin preconcentration of trace metals. *Analytica Chimica Acta*, 386, 155-159.
- JIN L., GOGAN N.J., **2000**, Copper complexing capacities of freshwaters by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 412, 77-88.

II.1. Anexo V – Localização da zona de amostragem dos sedimentos estudados



III. Figura V.5.1: Mapa de localização da zona de amostragem dos sedimentos estudados.